



**INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

TAINÁ GONÇALVES LOUREIRO

Abundância, trofodinâmica, variabilidade genética e orientações para manejo da espécie exótica invasora *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) (Decapoda, Cambaridae) no Sudeste Brasileiro

PORTE ALEGRE
2018

Tainã Gonçalves Loureiro

**Abundância, trofodinâmica, variabilidade genética e orientações
para manejo da espécie exótica invasora *Procambarus clarkii*
(Girard, 1852) (Decapoda, Cambaridae) no Sudeste Brasileiro**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, área de concentração biodiversidade, manejo e conservação, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Biologia Animal.

Orientadora: Dra. Paula Beatriz Araújo (UFRGS)

Porto Alegre
2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Reitor: Rui Vicente Oppermann

Vice-Reitora: Jane Fraga Tutikian

INSTITUTO DE BIOCIENCIAS

Diretora: Clarice Bernhardt Fialho

Vice-Diretor: Luiz Roberto Malabarba

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

Coordenador: Luiz Roberto Malabarba

Vice-Coordenadora: Maria João Ramos Pereira

CIP - Catalogação na Publicação

L892

Loureiro, Tainã Gonçalves Abundância, trofodinâmica, variabilidade genética e orientações para manejo espécie exótica invasora *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) (Decapoda, Cambaridae) no Sudeste Brasileiro / Tainã Gonçalves Loureiro; orientadora Paula Beatriz Araújo. - 2018. 157 f.

Tese (Doutorado - Doutorado em Biologia Animal) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Porto Alegre, 2018.

1. Genética populacional. 2. Estimativa populacional. 3. Experimento de remoção. 4. Controle populacional. 5. Ecologia trófica. I. Araújo, Paula Beatriz, orient. II. Título.

Tainã Gonçalves Loureiro

Abundância, trofodinâmica, variabilidade genética e orientações para manejo da espécie exótica invasora *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) (Decapoda, Cambaridae) no Sudeste Brasileiro

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, área de concentração biodiversidade, manejo e conservação, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Biologia Animal.

Aprovada em 30 de Outubro de 2018.

Banca Examinadora

Dra. Camila Both (UFSM)

Dra. Carolina Coelho Sokolowicz

Dr. Felipe Bezerra Ribeiro (UFRGS)

Dedico esta tese aos meus filhos, Aurora e Benício, que nasceram durante meu doutorado, coloriram meus dias, ampliaram minhas expectativas e significados e, como esta tese, me mostraram que tudo que é feito com amor, cuidado, responsabilidade e dedicação, cresce e floresce.

Agradecimentos

Agradeço a todos que colaboraram direta ou indiretamente com a minha trajetória, não apenas acadêmica, mas nos outros âmbitos da minha vida, pois estes se entrelaçam com uma solidez profunda.

Iniciarei com um agradecimento especial à minha orientadora, Dra. Paula Beatriz Araújo, que é uma pessoa amável e compreensiva, mas também exigente e tem um jeito especial de ajudar seus alunos e orientados a ver o seu melhor e alcançá-lo. Não posso deixar de mencionar a Dra. Georgina Bond Buckup e o Dr. Ludwig Buckup, mestres ilustres, amigos queridos e grandes exemplos. Ainda falando dos ilustres mestres que me serviram de exemplo, que me auxiliaram, que me receberam e que me ajudaram a alcançar o meu “melhor científico”, agradeço ao Dr. Sérgio L.S. Bueno, que me acompanhou nas saídas de campo, me incentivou, apoiou e guiou, assim como sou grata à sua família, que me recebeu periodicamente ao longo dos mais de 2 anos de coletas na cidade de São Paulo.

Sou grata ao Dr. Pedro Manuel Silva Gentil Anastácio; que colaborou com as pesquisas desenvolvidas; aos Professores Dr. Márcio Borges Martins e Dr. Milton Mendonça, que compuseram minha banca de acompanhamento; e aos Professores Dra. Carolina Coelho Sokolowicz, Dr. Gerhard E. Overbeck e Dr. Márcio Borges Martins que compuseram a minha banca de qualificação. Estes professores acompanharam o desenvolvimento da minha pesquisa e fizeram muitas contribuições válidas que levaram à melhoria do meu trabalho e ao meu crescimento profissional. Agradeço também aos ilustres membros da banca de Doutorado, que encontraram tempo em suas agendas para ler este trabalho e que certamente farão considerações para aprimorá-lo.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Pró-Reitorias de Pós-Graduação (PROPG) e de Pesquisa (PROPESQ) da UFRGS, ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da UFRGS (PPG-BAN) e ao Instituto de Biociências da USP. Estas entidades contribuíram com o fomento financeiro para a realização deste Doutorado. No caso do PPG-BAN (UFRGS), não apenas sou grata ao auxílio financeiro, mas a todos os seus professores e funcionários; obrigada pelo fomento intelectual, pelas excelentes aulas e professores e pela estrutura que utilizei para realizar meus trabalhos. Ao Instituto de Biociências da USP, obrigada também pela disponibilização de automóvel para as campanhas de coleta em São Paulo.

Aos colegas do Laboratório de Carcinologia, tanto os atuais como àqueles com quem convivi ao longo destes treze anos, agradeço com ternura pela parceria, colaboração, discussões aprendizados e claro, comilanças. Vocês foram muito mais que colegas, tornaram-se amigos, família.

Sou enormemente grata à minha maravilhosa família, que me apoia e incentiva a buscar meus objetivos. Muitos veem a pós-graduação como um estudo e não se dão conta de que apesar de não termos que “bater ponto”, não termos benefícios ou carteira assinada, nossa dedicação é enorme e frequentemente ultrapassa as 40 horas semanais de um “trabalhador padrão”. Lucas, obrigada pelo carinho, pelo companheirismo e pelo incentivo, meu amor por ti, nossa amizade e parceria fazem com que todos os obstáculos pareçam pequenos e pouco importante. Meus filhos, obrigada por me mostrar um novo mundo, novas prioridades, novos parâmetros, tudo mudou com a chegada de vocês e foi certamente para melhor. Mãe, sou grata pelo teu carinho, teu apoio e por sempre querer o melhorar para mim; sei que estás torcendo por mim, pelo meu sucesso profissional e que respeitas minhas escolhas, mesmo que as vezes sejam diferentes das escolhas que tu farias. Agradeço aos meus pais, Idel e Robson, e as minhas irmãs, Louise e Kenya. Vocês colorem meus dias.

Last but not least, Alexandra Elbakyan, sem ti muito menos seria possível.

Prefácio

Esta tese é o resultado de uma série trabalhos, esforços, reflexões e exercícios científicos, que foram articulados ao longo da minha trajetória acadêmica. Eu a concebo não como um produto final, mas como parte constituinte de um processo de aprendizado e crescimento, tanto individual como coletivo e, por isso, aberta a todos os tipos de reflexões e críticas que a conduzam a novos caminhos.

Alguns apontamentos iniciais são necessários para que coloquemos estes esforços intelectuais em um contexto mais amplo, que dizem respeito aos porquês das minhas escolhas de objeto, metodologias, formas de escrita e linguagem, bem como sinalizam a importância política de uma pesquisa cuja área de concentração é a biodiversidade, manejo e conservação no contexto brasileiro. Se o fazer científico está em constante ameaça na nossa jovem democracia, especificamente o conhecimento produzido acerca da natureza é intimidado pela necessidade do homem em transformá-la e dela obter a satisfação de seus desejos mais íntimos. Não faço aqui uma defesa purista e inconsequente, como se os recursos naturais devessem constituir um museu a céu aberto, preservados e intocados, objetos de tabu em relação a intervenção humana. Entretanto, não podemos nos furtar da crítica de modos de produção insustentáveis que vem nos empurrando para um abismo. As sociedades humanas cada vez mais estão convencidas de que os vetores da felicidade e do bem viver estão relacionadas com práticas de consumo. Acredito que podemos sair dessa dualidade a partir do momento em que o conhecimento científico seja verdadeiramente reconhecido como um valor maior e que suas respostas aos problemas da sociedade se coloquem à frente de interesses individuais.

É precisamente pelo argumento científico que percebo uma brecha para que possamos encontrar alternativas que saciem as necessidades humanas através de relacionamentos mais sofisticados com os ambientes naturais. Qualquer ecossistema é imensamente mais valioso em seu valor agregado com o conhecimento do que em seu valor bruto e imediato. Isso deveria ser o ensinamento inicial em qualquer departamento da nossa estimada universidade brasileira.

As nossas densas matas, nossas florestas exuberantes e nossos rios cheios de vida são cada vez mais destituídos de sua capacidade de resolução de problemas sociais e econômicos a longo prazo, sendo tomados como meros objetos manipuláveis para os interesses escusos e a curto prazo de um número reduzido de pessoas. O contexto atual de transformação de

ecossistemas delicados em vastas extensões de terra para uso humano (especialmente agropecuária, na criação de gado e plantações de monoculturas como soja e milho) sinalizam a proliferação, em nosso país, de elites econômicas com mentalidades pouco afeitas à reflexão científica. Quando nós, ambientalistas, expomos essas contradições, somos tachados de “ecochatos” ou radicais. Entretanto, é sintomático que mesmo com os níveis atuais de destruição dos ambientes naturais não tenhamos alcançado níveis sociais mais justos e igualitários em nosso país.

As partes interessadas que ganham com a devastação dos nossos recursos mais valiosos querem propagar a ideia de que esse é um sistema de troca, pelo qual nos desenvolveremos enquanto sociedade com um “custo aceitável” de botar abaixo aquilo que é caricaturalmente desenhado como “mero mato”. Essa talvez seja a grande *fake news* com que nós biólogos temos que lidar. Isso não reflete em nada a realidade. Mesmo que toda a Amazônia virasse uma grande fazenda de gado e o Cerrado fosse convertido em extensas plantações de soja, isso só faria com que os ganhadores de sempre engordassem suas contas escondidas em paraísos fiscais.

Os governos em suas diversas instâncias jamais conferiram o valor devido às nossas maiores riquezas, sejam elas humanas ou naturais. A recente catástrofe do incêndio no Museu Nacional, anunciada e previsível, é um marco de políticas de ataque aos valores científicos. “Deixar morrer”, “deixar queimar”, “deixar devastar”, são os lemas de um país “onde governar é criar desertos”, como sugere o antropólogo Eduardo Viveiros de Castro (não por menos professor do Museu Nacional). Se com a devastação da Amazônia e do Cerrado os governos vêm criando desertos naturais, na destruição dos bens culturais criam-se “desertos no tempo”.

Ser cientista no Brasil é atribuir para si a missão de cruzar desertos sem a certeza de um ponto de chegada. Minha tese e minha posição epistemológica em relação a produção de conhecimento científico se insere nessa trincheira: uma singela contribuição para que construamos coalizões para frear os ímpetos destrutivos do comportamento coletivo humano.

A história do meu “animal-objeto” diz respeito aos desejos dos humanos em desbravar fronteiras, modificar o ambiente de acordo com seus interesses e, infelizmente, não pensar devidamente nas consequências de seus atos. Eles foram trazidos para os nossos ecossistemas e seus impactos são potencialmente perigosos para as espécies nativas. Não poderia deixar de ressaltar o sentimento ambíguo que tenho em relação a eles: amo-os por tudo que me

proporcionaram aprender e odeio-os pelo que podem fazer com outras espécies que dependem de um delicado balanço de fatores para sua existência.

Para que o leitor consiga acompanhar o processo que moldou o desenvolvimento desta tese, é importante mencionar que uma parte do desenvolvimento do projeto inicial também foi afetada pelas políticas de “desertificação” da ciência impostas pelos nossos governos. Em 2015 dediquei meses na elaboração de um projeto para realização de um doutorado sanduíche em uma universidade europeia que me possibilitaria fazer análises que não seriam possíveis no Brasil. Infelizmente, a resposta aceitando o pedido em seus méritos e o negando por falta de recursos veio um ano depois do prazo estipulado pela agência de fomento.

Feito esse breve contexto do panorama em que desenvolvi meu trabalho, convido para que outros profissionais que não apenas das ciências biológicas dialoguem com o conhecimento aqui construído. A invasão biológica constitui um campo de pesquisas pelo qual fui gradativamente seduzida. É uma temática que extrapola as ciências naturais e permite adensar investigações sobre as interações entre agentes humanos e não humanos. Pude pôr em prática todos os conhecimentos acumulados por esse período de engajamento com as ciências biológicas que dura mais de uma década e que, certamente, são os passos iniciais de uma longa trajetória que desejo trilhar.

A tese está organizada em 5 capítulos. No **capítulo I**, exponho de forma ampla a problemática de pesquisa, abordando a questão de invasão pelo lagostim de água doce *Procambarus clarkii* no mundo e sumarizamos as informações referentes a este processo especificamente no Brasil.

O **capítulo II** é resultado de um longo estudo que descreve a dinâmica populacional da espécie durante um ano, através de estimativas sazonais de abundância de uma das populações estabelecidas no Brasil, além de propor um método fácil e de baixo custo para o monitoramento periódico das populações exóticas e de testar uma estratégia de controle populacional. Este capítulo está redigido em inglês pois é uma versão ampliada de um manuscrito já publicado.

O **capítulo III** traz uma análise da ecologia trófica do Lagostim-Vermelho, descreve a dieta desta espécie em uma área de conservação de Mata Atlântica e faz importantes considerações quanto à contribuição da composição alimentar para o sucesso de estabelecimento e sua relação com o potencial de impacto gerado pelo estabelecimento destes animais. Este capítulo também está redigido em inglês pois é uma versão ampliada de um manuscrito já submetido para publicação.

O **capítulo IV** traz o estudo de variabilidade genética realizado com as populações invasoras de *P. clarkii* no Brasil e algumas amostras provenientes da área nativa destes crustáceos. Neste capítulo, são mencionadas algumas características genéticas descritivas e surgem algumas inferências relacionadas com a conectividade ambiental entre as populações analisadas e fatores históricos de introdução. Assim como os dois capítulos anteriores, o capítulo IV está redigido em inglês pois será submetido para publicação.

O **capítulo V** sumariza o arcabouço legal existente no Brasil para lidar com a temática das Espécies Exóticas Invasoras (EEI) e são feitas algumas recomendações para o manejo de invasão do Lagostim-Vermelho no Brasil, baseadas nos resultados obtidos nesta tese, nas informações disponíveis na literatura e na minha experiência acumulada ao longo dos sete anos em que investiguei esta temática.

Por fim, nas considerações finais, são sumarizadas as informações levantadas ao longo do trabalho e as lacunas ainda existentes são enumeradas para desdobramentos futuros. A tese está formatada, inclusive as referências, de acordo com a da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Adoto tais padrões por acreditar que eles facilitam uma leitura da tese como um todo (e não apenas de seus capítulos em separado), conferindo ao leitor a navegação e acesso rápido às abreviaturas e siglas, ilustrações, tabelas e referências que atravessam todos os manuscritos e que foram numeradas sequencialmente. Também foram reeditadas figuras e inseridas ilustrações inéditas em relação aos manuscritos previamente publicados ou enviados para publicação.

LOUREIRO, T. G. *Abundância, trofodinâmica, variabilidade genética e orientações para manejo da espécie exótica invasora *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) (Decapoda, Cambaridae) no Sudeste Brasileiro.* 2018. 157 f. Tese (Doutorado em Biologia Animal) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, 2018.

Resumo

O lagostim Norte-Americano *Procambarus clarkii* está entre as espécies exóticas estabelecidas no Brasil, registrada no estado de São Paulo. Este crustáceo de água doce apresenta grande potencial de invasão (ampla plasticidade ecológica, elevada agressividade, enorme poder de dispersão). Além disso, é portador do oomiceto *Aphanomyces astaci*, ao qual as espécies de crustáceos nativas do Brasil podem não ser imunes. Inúmeros impactos já foram associados à presença de *P. clarkii* em várias partes do mundo, desde danos ao ecossistema até impactos sobre a biota nativa. A fim de contribuir com informações relevantes para o desenvolvimento de estratégias de manejo e mitigação de impacto desta espécie no Brasil, esta pesquisa (1) levantou informações sobre a dinâmica populacional e o efeito da sazonalidade na sua abundância, (2) aperfeiçoou e propôs um método padronizado, rápido e acessível para o monitoramento das populações invasoras, (3) testou uma abordagem para controle populacional, (4) verificou a ecologia alimentar e as variações sazonais e intrapopulacionais na dieta, relacionando estes aspectos com o potencial de impacto, (5) analisou a diversidade genética de 9 populações estabelecidas no estado de São Paulo através da utilização de marcadores mitocondriais, (6) sumarizou o panorama legal sobre espécies invasoras, e (7) propõe ações para o manejo de invasão de *P. clarkii*. Foi definida uma metodologia padronizada para o acompanhamento das populações invasoras de *P. clarkii*, baseada no método de Schumacher e Eschmeyer para populações fechadas. As análises de dinâmica populacional demonstraram que não há efeito sazonal na abundância da população estudada e que a mesma segue crescendo com taxas consideráveis. Após testar um método de controle populacional baseado na remoção periódica de indivíduos ao longo de um ano, percebeu-se que a abundância populacional aumentou drasticamente e que o controle populacional através de remoção intensiva de indivíduos deve ser mais eficiente que a remoção extensiva. O estudo da dieta evidenciou a voracidade destes lagostins, que se alimentam continuamente de itens diversificados, tanto de origem animal quanto vegetal. Sua alta plasticidade trófica contribui para o alto potencial de estabelecimento em novos ambientes, uma vez que pode utilizar diferentes recursos alimentares dependendo da sua disponibilidade. Esta alta diversidade alimentar também está relacionada com o elevado poder de impacto, uma vez que fontes de diferentes níveis tróficos são utilizadas como recurso alimentar, podendo gerar um desequilíbrio trófico multidirecional, além de ameaçar a abundância e diversidade das espécies consumidas. Nas análises moleculares, foram encontradas apenas 7 haplótipos compartilhados por indivíduos de populações diferentes. Nenhum haplótipo é compartilhado entre populações brasileiras e indivíduos de populações autóctones, embora 3 haplótipos sejam observados entre populações nativas e outros 4 sejam encontrados em algumas populações brasileiras. As diferentes abordagens analíticas aplicadas ao longo deste estudo indicam que *P. clarkii* está adequadamente adaptado às situações bióticas e abióticas encontradas no Brasil, não havendo nenhuma estação em que os indivíduos encontrem barreiras importantes que pudessem dificultar sua sobrevivência e expansão, de forma que é indiferente a época do ano em que se fará maiores investimentos em manejo das populações invasoras.

Palavras-chave: Lagostim-Vermelho; Estimativa populacional; Experimento de remoção; Controle populacional; Dieta; Ecologia trófica; COI, Haplótipos.

LOUREIRO, T. G. *Abundance, trophodynamics, genetic variability and guidelines for the management of the invasive exotic species *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) (Decapoda, Cambaridae) in Southeast Brazilian*. 2018. 157 p. Thesis (Ph.D. in Animal Biology) – Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, 2018.

Abstract

Amongst the non-native species currently established in Brazil, the North-American freshwater crayfish *Procambarus clarkii*, is highlighted. This species has notable economic importance worldwide due to its value to aquaculture among aquarists. The occurrence of this species in Brazil seems to be restricted to the State of São Paulo. *Procambarus clarkii* shows a remarkable potential of invasion as a result of its wide ecological plasticity, elevated aggressiveness and high dispersion capacity. Additionally, it hosts the oomycete *Aphanomyces astaci*, which might infect and threat native crustaceans. Many impacts were associated to the establishment of this crayfish around the world, from ecosystem disturbances to the harm of native biota. In order to provide relevant information to the development of impact mitigation actions and management strategies related to *P. clarkii*'s invasion in Brazil, this research (1) evaluated the population dynamics and the effect of seasonality on abundance of one invasive population, (2) adapted and proposed a standardized method to monitor invasive populations which is easily executed and of low budget, (3) tested an approach for population control, (4) verified the trophic ecology of this freshwater crayfish, considering seasonal and intrapopulational variations, relating this aspect to invasive capacity and potential impact, (5) analyzed the genetic variability of 9 populations established in the State of São Paulo through molecular mitochondrial markers, (6) summarized the legal panorama about invasive species, and (7) proposes management actions to deal with *P. clarkii* invasion. After testing some traditional methods for abundance estimation, in search for the most easily replicated and performed, we defined a standardized methodology to monitor invasive populations of *P. clarkii*, based in the estimation method of Schumacher and Eschmeyer for closed populations. The population dynamic analysis demonstrated that seasonality does not play a role in abundance and that the population is in continuous growth. The test of population control, based on periodical removal of individuals for a year did not result in a decrease on abundance as we expected. Thus, we believe that intensive animal removal might be more promising than extensive removal. The diet evaluation evidenced the remarkable voracity of this crayfish, which continuously feeds on a variety of items as macrophytes, algae, insects, crustaceans, mollusks, fishes and amphibians. We also found a notable trophic plasticity that must contribute for the great establishment and potential impact offered by this species. The molecular analysis showed 7 haplotypes that are shared among individuals from different populations. No haplotype is shared between native and Brazilian populations however, some native populations share 3 haplotypes and some Brazilian share 4 haplotypes. The variable approaches used in this thesis indicate that *P. clarkii* is adequately adapted to biotic and abiotic conditions in Brazil and it seems that there is no season in which individuals are under important ecological pressure related to population abundance or food resources, which would difficult their survivorship or range expansion. Thus, according to our data, there is no specific season in which population are subjected to any notable pressure that could be favored for management.

Key-words: Invasive alien species (IAS); Red Swamp Crayfish; Population estimate; Removal experiment; Population control; Diet composition; Trophic ecology; COI; Haplotypes.

Lista de abreviaturas e siglas
List of abbreviations

CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CDB	Convenção sobre a Diversidade Biológica
CL	Carapace lenght
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CONABIO	Comissão Nacional de Biodiversidade
DOU	Diário Oficial da União
EEI	Espécie Exótica Invasora
F	Females
IAS	Invasive Alien Species
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
IUCN	International Union for Conservation of Nature
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
JSP	Jaraguá State Park
M	Males
MMA	Ministério do Meio Ambiente
mtDNA	Mitochondrial DNA
NRM	Non-Reproductive Males
PEJ	Parque Estadual do Jaraguá
PEPA	Percentage of the stomach weight in relation to animal total body weight
PNUD	Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento
PNUMA	Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente
POCL	Postorbital Carapace Length
POO	Percentage of Occurrence
PPGBAN	Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal
PROPESQ	Pró-Reitoria de Pesquisa
PROPG	Pró-Reitoria de Pós-graduação
RM	Reproductive Males
SCOPE	Scientific Committee on Problems of the Environment
SDF	Stomach relative Degree of Fullness
TBWW	Total Body Wet Weight

UC	Unidade de Conservação
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
USP	Universidade de São Paulo
WfW	Working for Water

Lista de ilustrações

Figura 1 - Remanescentes florestais da Mata Atlântica	26
Figura 2 - Etapas do processo de invasão biológica.....	29
Figura 3 - Exemplar de <i>Procambarus clarkii</i>	32
Figura 4 - Distribuição global de <i>Procambarus clarkii</i>	34
Figura 5 - Tocas escavadas por <i>Procambarus clarkii</i>	35
Figura 6 - Populações invasoras de <i>Procambarus clarkii</i> no Brasil	37
Figura 7 – Localização geográfica do PEJ e detalhamento da área.....	44
Figura 8 – Armadilhas utilizadas para a captura dos lagostins.....	45
Figura 9 – Indivíduo de <i>Procambarus clarkii</i> marcado	46
Figura 10 – Recessão das estimativas populacionais e valores sazonais de abundância.....	51
Figura 11 – Área de estudo.....	62
Figura 12 – Estômago de <i>Procambarus clarkii</i>	65
Figura 13 – Dados morfométricos de <i>Procambarus clarkii</i>	69
Figura 14 – Relação comprimento-peso	70
Figura 15 – Número de indivíduos em cada categoria de SDF	74
Figura 16 – Porcentagem de indivíduos com estômago cheio sazonalmente.....	75
Figura 17 – SDF de <i>Procambarus clarkii</i> ao longo do ano.....	76
Figura 18 – Proporção de matéria animal (AM) consumida sazonalmente	77
Figura 19 – Composição da dieta	82
Figura 20 – Porcentagem de ocorrência dos itens alimentares sazonalmente	84
Figura 21 - Porcentagem de ocorrência dos itens alimentares por grupo demográfico	85
Figura 22 – Pedaço de peixe encontrado em um estômago.....	86
Figura 23 - Dendrograma dos grupos demográficos	93
Figura 24 – Resumo esquemático da ecologia trófica no PEJ.....	94
Figura 25 – Populações invasoras analisadas quanto a variabilidade genética	106
Figura 26 – Rede de haplótipos compartilhados	111
Figura 27 - Estratégias de manejo em diferentes fases do processo de invasão.....	121
Figura 28 - Representação esquemática do manejo adaptativo	128

List of figures

Figure 1 – Atlantic Forest remnants	26
Figure 2 – Steps of bioinvasion	29
Figure 3 - <i>Procambarus clarkii</i> individual	32
Figure 4 – Global distribution of <i>Procambarus clarkii</i>	34
Figure 5 - <i>Procambarus clarkii</i> burrows	35
Figure 6 – Invasive populations of <i>Procambarus clarkii</i> in Brazil	37
Figure 7 - Geographic location of Jaraguá State Park and area details	44
Figure 8 - Traps used to capture crayfish	45
Figure 9 - A marked individual of <i>Procambarus clarkii</i>	46
Figure 10 - Regression of abundance estimations and estimated abundance in each season...	51
Figure 11 - Study area location.....	62
Figure 12 - Stomach of <i>Procambarus clarkii</i>	65
Figure 13 - Morphometric data of <i>Procambarus clarkii</i>	69
Figure 14 - <i>Procambarus clarkii</i> length-weight relationship	70
Figure 15 - Number of <i>Procambarus clarkii</i> individuals in each (SDF) category.....	74
Figure 16 - Percentage of <i>Procambarus clarkii</i> individuals with full stomachs per season	75
Figure 17 - SDF of <i>Procambarus clarkii</i> throughout the year	76
Figure 18 - Proportion of animal matter (AM) consumed in each season	77
Figure 19 - Diet composition of <i>Procambarus clarkii</i> in Southeast Brazil.....	82
Figure 20 – POO of food items in stomachs of <i>Procambarus clarkii</i> per season	84
Figure 21 - POO of food items in stomachs of <i>Procambarus clarkii</i> per group	85
Figure 22 - Fish remains found in <i>Procambarus clarkii</i> stomach.....	86
Figure 23 - Dendrogram of the groups of <i>Procambarus clarkii</i>	93
Figure 24 - Schematic overview of <i>Procambarus clarkii</i> 's feeding ecology in JSP.....	94
Figure 25 - Invasive populations analyzed regarding genetic variation.....	106
Figure 26 - Haplotype network of shared haplotypes from <i>Procambarus clarkii</i>	111
Figure 27 – Managemnt strategies along the invasion process	121
Figure 28 – Adaptative managemnt	128

Lista de tabelas

Tabela 1 – Abundância sazonal	47
Tabela 2 – Dados utilizados para calcular a abundância em cada estimativa	52
Tabela 3 – Número de indivíduos capturados por mês	54
Tabela 4 – Porcentagem de indivíduos em cada categoria de SDF.....	72
Tabela 5 - PEPA por grupo	73
Tabela 6 – Índice de diversidade de Shannon-Winner da composição da dieta.....	79
Tabela 7 - POO dos itens alimentares observados por grupo demográfico e sazonalmente	81
Tabela 8 – Análise de similaridade dos itens alimentares	91
Tabela 9 - Análise de similaridade dos itens alimentare separados por estação	92
Tabela 10 – Populações nativas e invasoras analisadas	105
Tabela 11 – Índices de diversidade genética	108
Tabela 12 – Diversidade nucleotídica entre populações	110

List of tables

Table 1 – Abundance data from seasonal estimations.....	47
Table 2 - Field data used to calculate population abundance at each estimation	52
Table 3 - Number of <i>Procambarus clarkii</i> captured per month.....	54
Table 4 - Percentage of individuals in each SDF category.....	72
Table 5 - PEPA for different groups.....	73
Table 6 - Shannon-Winner diversity index of food item composition.....	79
Table 7 - POO of the food items identified in stomach separated by season and group.....	81
Table 8 - Similarity analysis of food items	91
Table 9 - Similarity analysis of food items separated by seasons	92
Table 10 - Native and invasive populations analyzed regarding genetic variation	105
Table 11 - Genetic diversity index of native and invasive populations.....	108
Table 12 - Nucleotide diversity (Pi) between populations	110

Sumário

Capítulo I.....	22
Introdução geral	23
1.1 Conservação dos ambientes límnicos	24
1.2 Mata Atlântica	25
1.3 Invasão biológica	27
1.4 Invasão biológica no Brasil	30
1.5 O lagostim de água doce <i>Procambarus clarkii</i>	31
1.6 Justificativa	38
1.7 Objetivo geral	38
1.8 Objetivos específicos	38
Capítulo II	39
2 - Management of invasive populations of the freshwater crayfish <i>Procambarus clarkii</i> (Decapoda, Cambaridae): Test of a population-control method and proposal of a standard monitoring approach	39
2.1 Abstract	40
2.2 Introduction.....	41
2.3 Methods	43
2.3.1 Study site	43
2.3.2 Sampling technique	44
2.3.3 Population size estimates and data analysis.....	45
2.3.4 Removal experiment and data analysis.....	48
2.4 Results	50
2.4.1 Population size estimation	50
2.4.2 Removal experiment	50
2.5 Discussion.....	53
Capítulo III.....	57
3 - Food matters: Trophodynamics and the role of Diet in <i>Procambarus clarkii</i> invasion success in an Atlantic Forest conservation area	57
3.1 Abstract	58
3.2 Introduction.....	60
3.3 Material and methods	62
3.3.1 Study site and field work	62
3.3.2 Laboratory and statistical analysis.....	63
3.3.3 Morphometric data.....	63
3.3.4 Stomach content preparation	64
3.3.5 Diet composition.....	65
3.3.6 Diet diversity and dissimilarity.....	66
3.3.7 Statistical analysis.....	67
3.4 Results and discussion	68
3.4.1 Morphometry	68
3.4.2 Stomach content (SDF and PEPA)	70
3.4.3 Diet composition and omnivorous behaviour.....	77

3.4.4 Diet diversity, composition and generalist feeding behavior	78
3.4.5 Diet dissimilarity and selective feeding.....	89
3.4.6 Feeding behaviour overview.....	94
3.4.7 Diet, invasion success and potential threats	95
3.5 Final remarks	99
Capítulo IV	101
4 - Genetic variation of introduced populations of <i>Procambarus clarkii</i> (Girard, 1852) (Crustacea, Decapoda, Cambaridae) in Brazil	101
4.1 Abstract	102
4.2 Introduction.....	103
4.3 Material and methods	105
4.3.1 Study site and field work	105
4.3.2 Laboratory and Molecular analysis.....	106
4.4 Results and Discussion	108
Capítulo V	114
5 – Sugestões para o manejo da EEI Lagostim-Vermelho: Considerações a partir das especificidades de <i>Procambarus clarkii</i> e possibilidades de implementação com base na legislação brasileira	114
5.1 Marcos legais	115
5.1.1 Acordos e atores internacionais	115
5.1.2 Legislação sobre invasão no Brasil.....	118
5.2 Manejo de espécies invasoras	120
5.3 Sugestões para o manejo da invasão de <i>Procambarus clarkii</i> no Brasil	123
5.3.1 Prevenção.....	123
5.3.2 Detecção precoce	124
5.3.3 Erradicação e controle	125
5.3.4 Monitoramento	126
5.4 Conclusão	128
Considerações finais	130
Perspectivas futuras	134
Referências	135
Anexo I	155
Anexo II	157

CAPÍTULO I

Introdução geral

A história da vida na Terra vem sendo moldada por fenômenos de aumento ou diminuição da área de ocupação das espécies, migrações, extinções e surgimentos de novos táxons. Todos estes fenômenos nos trazem ao retrato que vemos hoje. Neste cenário volátil e cheio de interações entre as espécies e entre as espécies e seu ambiente, surge a temática da invasão biológica. Neste contexto dinâmico, a distribuição de algumas espécies pode se modificar, não apenas por alterações nas suas capacidades de adaptação ou de deslocamento, mas através da ação humana, pela construção ou remoção de barreiras geográficas e ecológicas ou diretamente pela translocação destas espécies (RICCIARDI, 2007).

Esta nova dinâmica biogeográfica proporcionada pela atuação humana em função de questões econômicas, sociais e culturais e ampliada com o surgimento de novas tecnologias, é capaz de alterar os processos de distribuição, migração, extinção e especiação biológicas. A invasão biológica é sabidamente uma grande ameaça ao meio ambiente e à economia e tanto em escala global quanto nacional, figurando entre as principais causas de perda da biodiversidade (DAVIS, 2003; BELLARD *et al.*, 2016). Mesmo com as declarações da *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) e do Ministério do Meio Ambiente do Brasil (MMA) relacionadas ao impacto das espécies exóticas invasoras (EEIs), poucos recursos são mobilizados para ações integradas de manejo, especialmente no Brasil. Somam-se a estas dificuldades financeiras uma série de desafios na atualização e organização das listas de espécies invasoras existentes.

É preciso lembrar que o Brasil detém mais de 15% de todas as espécies de plantas e animais do planeta, assim como muitos dos ambientes mais conservados e abriga dois dos *hotspots* mundiais: o Cerrado e a Mata Atlântica (MYERS *et al.*, 2000). Por isso, a conservação da biodiversidade brasileira deve ser priorizada e a preocupação com a invasão biológica deve receber maior atenção. Considerando que a erradicação de EEIs já estabelecidas é muito difícil e dispendiosa, a melhor abordagem é a prevenção. Prevenir a introdução de novas espécies com alto potencial de estabelecimento, assim como prevenir o aumento da área de ocupação das espécies exóticas já estabelecidas.

1.1 Conservação dos ambientes límnicos

As águas continentais cobrem menos de 1% da superfície terrestre, contém cerca de 0,01% de toda a água do planeta e, mesmo assim, estes ecossistemas abrigam cerca de 10% de todas as espécies animais existentes e muitas das espécies vegetais (DIJKSTRA *et al.*, 2014). Neste cenário, o Brasil se destaca pela grande quantidade de recursos límnicos em seu território, abrigando 63% da rede hidrográfica mundial (MMA *et al.*, 2007).

Os ambientes límnicos abrigam uma grande diversidade de flora e fauna e possuem alta produtividade (BARTRAM; BALANCE, 1996; MITSCH; GOSSELINK, 2000). Estima-se que cerca de um terço das espécies de vertebrados do planeta ocorram nos ecossistemas de água doce; e.g. peixes dulcícolas compreendem 25% de todas as espécies atuais de vertebrados, sendo que destes, 30% das espécies estão enquadradas em alguma categoria de ameaça. Se considerarmos os invertebrados límnicos, o quadro é ainda mais preocupante já que o conhecimento da diversidade destes grupos é precário, especialmente nas regiões tropicais e uma vez que existem poucas estimativas sobre sua real situação de ameaça (ABELL, 2002).

Os ambientes dulcícolas são considerados os ecossistemas mais ameaçados do mundo, apesar da tamanha relevância dos recursos hídricos para o uso humano, de sua importância ecológica, da alta diversidade e exuberante riqueza de espécies. Ricciardi e Rasmussen (1998) sugerem que, em escala global, a biodiversidade nos ecossistemas límnicos tem diminuído de forma muito mais acelerada do que o observado na maioria dos ecossistemas terrestres. Os principais fatores de ameaça são: degradação pela eutrofização, acidificação, sedimentação e aumento da turbidez; manipulações hidrológicas, como a implantação de barramentos em sistemas fluviais, drenagens, remoção de águas subterrâneas, uso na irrigação e canalização; percolação de pesticidas e fertilizantes usados na agricultura, ou contaminação por outras substâncias tóxicas; remoção da vegetação ripária e de interflúvio; exploração de espécies com importância econômica; mudanças globais como o aumento da incidência de luz ultravioleta e o aquecimento global; e estabelecimento de EEIs (DUDGEON *et al.*, 2006; SUSKI; COOKE, 2007).

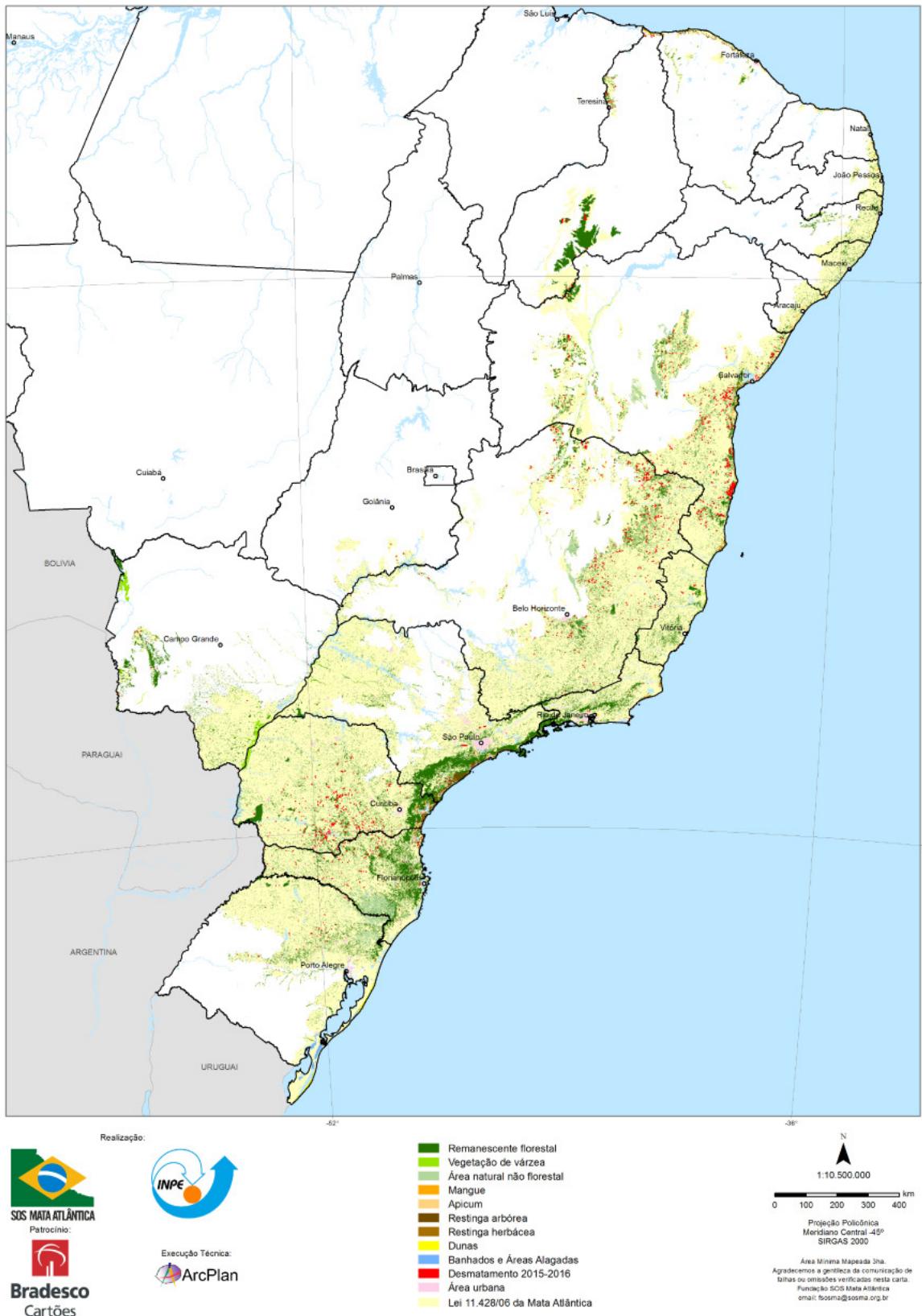
1.2 Mata Atlântica

A Mata Atlântica figura entre os ecossistemas mais ricos e diversos da Terra. É considerada um dos mais importantes repositórios de biodiversidade do planeta e um dos biomas mais ameaçados do mundo, por isso está incluída na lista dos 25 *hotspots* de biodiversidade (MYERS *et al.*, 2000; TABARELLI *et al.*, 2005). Este ecossistema abriga de 1 a 8% das espécies do planeta, com cerca de 5% da flora mundial, 42,5% das espécies brasileiras de mamíferos dos quais 30% são endêmicos, 75,6% das aves brasileiras endêmicas e a segunda maior diversidade de répteis no Brasil (MARINI; GARCIA, 2005; SOUSA *et al.*, 2009; PAGLIA *et al.*, 2012).

Apesar de sua grande importância biológica, este bioma está atualmente reduzido a fragmentos florestais isolados que representam menos de 8% da sua área original (Figura 1). As áreas mais ameaçadas estão nas regiões nordeste e sudeste do Brasil. No estado de São Paulo, por exemplo, a cobertura original de Floresta Atlântica foi reduzida a cerca de 10% do que era (CASTRO; MENEZES, 1998; DE LIMA *et al.*, 2016). Os ambientes límnicos dentro do bioma Mata Atlântica são igualmente importantes, abrigando uma fauna muito rica e com alto grau de endemismo (ABILHOA *et al.*, 2011).

Figura 1 - Remanescentes florestais da Mata Atlântica
Figure 1- Atlantic Forest remnants

Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica 2015-2016



Fonte: SOS Mata Atlântica. Disponível em: <https://www.sosma.org.br/106279/desmatamento-da-mata-atlantica-cresce-quase-60-em-um-ano>.

1.3 Invasão biológica

A distribuição natural das espécies depende de fatores intrínsecos (como a capacidade de dispersão das mesmas, sua seletividade ecológica, entre outros) de fatores extrínsecos (como a existência de barreiras naturais, condições ambientais, etc.) e de interações interespecíficas e intraespecíficas dentro da comunidade (LOMOLINO *et al.*, 2017). Com o surgimento do homem, seus padrões comportamentais, desenvolvimentos tecnológicos, características sociais e culturais, uma nova dinâmica foi estabelecida nas comunidades com as quais ele interagia; já durante os primeiros eventos de migração e colonização humana para diferentes continentes, há mais de 100.000 anos, houve as primeiras quebras sistemáticas de barreiras geográficas naturais (STRINGER; ANDREWS, 1988; CROSBY, 2011).

Ao longo de nossa história evolutiva, deslocamentos em busca de novos territórios e recursos, muitas espécies foram sendo accidentalmente ou intencionalmente translocadas por questões alimentares, culturais e econômicas, o que foi acumulando inúmeros processos de introdução de espécies exóticas (CROSBY, 2011; DIAMOND, 2017). Dentre as espécies que foram sendo introduzidas em novos ambientes, uma parcela conseguiu se estabelecer e passou a gerar efeitos negativos sobre os ambientes colonizados, sobre a biodiversidade nativa, sobre as populações humanas residentes e sobre os sistemas produtivos e/ou bens humanos, de forma que passaram a ser reconhecidas como EEIs (MOONEY *et al.*, 2005). O surgimento de novas tecnologias de transporte (navegação, aviação, etc.) e o processo de globalização aceleraram enormemente a translocação de espécies, resultando em um acentuado aumento dos registros de casos de danos ambientais, sociais e econômicos causados pela introdução de EEIs (MEYERSON; MOONEY, 2007).

Por definição, EEIs são aquelas espécies exóticas capazes de colonizar e se estabelecer em áreas fora da sua região de distribuição nativa e que possuem a capacidade de gerar enormes prejuízos à economia, à biodiversidade e à saúde humana devido ao seu grande potencial de modificar os sistemas naturais (LOCKWOOD *et al.*, 2013). De forma geral, os impactos causados por estes organismos são: substituição de espécies nativas (CROOKS, 1998), geração de híbridos (HUXEL, 1999), perda da diversidade de espécies (LOGDE, 1993) e alterações na cadeia alimentar e no ciclo de nutrientes (VITOUEK, 1990).

Os processos de invasão biológica são divididos em diferentes estágios (introdução, estabelecimento, dispersão e impacto) (Figura 2) (WILLIAMSON, 1996), de forma que as estratégias para reverter ou reduzir os danos são estabelecidas de acordo com o estágio em que um processo de invasão se encontra (SIMBERLOFF *et al.*, 2005).

A primeira etapa de um processo de bioinvasão é a introdução. Nesta etapa ocorre a translocação de alguns indivíduos ou propágulos de uma determinada espécie de sua área de distribuição natural para um novo local. A introdução pode se dar pelo transporte de indivíduos ou pela redução/desaparecimento das barreiras de dispersão naturais responsáveis pela contenção desta espécie em uma determinada área (CADOTTE *et al.*, 2006).

Quando a transposição de uma barreira geográfica ou de distribuição se dá pelo transporte de indivíduos, tanto intencional, no caso de espécies com interesse econômico, social ou ecológico, quanto acidental, quando algumas espécies são transportadas juntamente com as espécies ou objetos de interesse, esta espécie passa a ser denominada espécie exótica ou espécie introduzida e o mecanismo de translocação da mesma é denominado vetor de introdução (LOCKWOOD *et al.*, 2013) (Figura 2).

Uma espécie exótica introduzida pode ou não conseguir se adaptar a este novo local, suas condições bióticas e abióticas. Inicia-se então a etapa de estabelecimento, a qual vai depender das barreiras ambientais que esta espécie enfrentará (e.g. disponibilidade de recursos, temperatura, pluviosidade, presença de predadores, competição, entre outros). Dentre as inúmeras espécies introduzidas, poucas são aquelas que conseguem se ajustar ao novo ambiente; aquelas que tem sucesso, passam a ser denominadas espécies estabelecidas (LOCKWOOD *et al.*, 2013) (Figura 2).

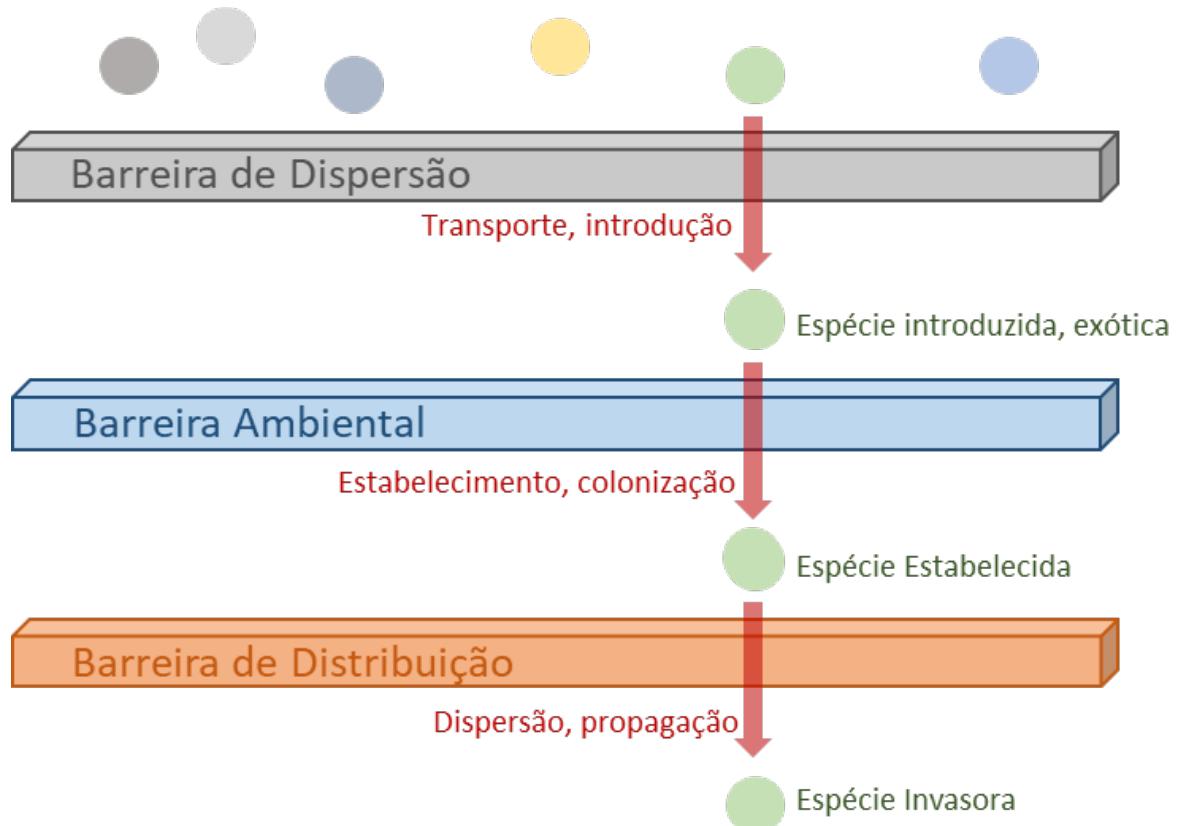
Para que uma espécie exótica se torne estabelecida, ela deve então superar alguns filtros naturais, que compõe a barreira ambiental mencionada acima. Estes filtros podem ser biogeográficos, fisiológicos e/ou biológicos, sendo os últimos dois mais atuantes nesta fase. De acordo com o modelo proposto por Colautti e MacIsaac (2004), existem três fatores que afetam a probabilidade de que uma espécie possa passar por cada um destes filtros: 1) pressão de propágulo, que está relacionada à quantidade de indivíduos introduzidos; 2) exigências fisiológicas da espécie exótica; e 3) o modo como ela interage com a comunidade receptora. Estas relações podem ser positivas ou negativas e irão afetar o número final de propágulos que passam com sucesso através de cada filtro. A espécie exótica introduzida somente será considerada uma espécie estabelecida quando for capaz de sobreviver no novo habitat e formar populações estáveis, com probabilidade de contínua sobrevivência (DAVIS, 2009).

Após o estabelecimento, uma espécie exótica será considerada EEI se suplantar a terceira e última barreira, a de distribuição. Esta, é a etapa de dispersão ou propagação, na qual a espécie torna-se capaz de aumentar sua área de ocupação (RICHARDSON *et al.*, 2000) (Figura 2).

O sucesso e o tempo que cada espécie leva para passar por cada uma destas etapas é bastante singular e estão relacionados às suas características próprias e também do ambiente que foi introduzida, de forma que pode ser invasora em um local, mas não conseguir se estabelecer em outro (SAKAI *et al.*, 2001).

Assim como cada processo de invasão possui características próprias, o potencial de impacto que oferecem também varia muito de acordo com a espécie e o ambiente colonizado. Todavia, sabe-se que muitas EEIs possuem a capacidade de gerar enormes prejuízos à economia, biodiversidade e saúde humana. De forma geral, EEIs apresentam grande potencial de modificar os sistemas naturais e alterar processos ecológicos importantes, como o ciclo da água, de energia e/ou de nutrientes (VITOUSEK, 1990; WALKER; STEFFEN, 1997; WILCOVE *et al.*, 1998); podendo gerar extinção local e substituição de espécies autóctones, e afetar inclusive os serviços da natureza (serviços prestados pelos ecossistemas) (CROOKS, 1998; CHORNESKY; RANDALL, 2003).

Figura 2 - Etapas do processo de invasão biológica
Figure 2- Steps of bioinvasion



Fonte: Elaboração da autora.

Notas: Etapas do processo de invasão biológica (em vermelho), evidenciando as barreiras que limitam cada uma destas etapas e a nomenclatura utilizada para as espécies analisadas em cada uma das fases. Os círculos representam espécies diferentes (adaptado de RICHARDSON *et al.*, 2000).

Com relação às repercussões econômicas associadas às EEIs, se observam impactos diretos e indiretos. Os custos diretos são principalmente relacionados aos gastos com o controle e a erradicação das EEIs (e.g. despesas com pesticida) ou com a diminuição do rendimento de setores produção como a agricultura e a pecuária. Os impactos com custo indireto estão geralmente associados à perda de serviços da natureza, como a redução do suprimento de água, por exemplo. Pimentel *et al.* (2001) estimaram que o gasto anual associado ao problema da invasão biológica nos países estudados (Estados Unidos, Inglaterra, Austrália, Índia, África do Sul e Brasil) ultrapassa os US\$ 336 bilhões. Todavia, é praticamente impossível aferir um valor financeiro que quantifique a extinção local ou total de uma espécie ou outros danos gerados à biodiversidade, de forma que o valor supracitado é uma subestimativa.

1.4 Invasão biológica no Brasil

No Brasil, a invasão biológica é a segunda maior causa de perda de biodiversidade (MMA, 2006) e, segundo o Relatório Nacional sobre Espécies Exóticas Invasoras publicado em 2006, foram registradas 1.593 ocorrências de EEIs em ecossistemas límnicos brasileiros, com a presença de 180 organismos exóticos dos quais 167 foram identificados ao nível de espécie: 116 peixes (incluindo híbridos), 19 microcrustáceos, 14 macrófitas (incluindo uma híbrida), 6 crustáceos¹, 4 anfíbios, 5 moluscos, 2 répteis e uma sanguessuga. Além dessas espécies, também foram registrados outros organismos e microrganismos cuja identificação foi feita até o nível de gênero (MMA, 2006). Das espécies que iniciaram processos de invasão no Brasil, cerca de 70% foram introduzidas de forma voluntária por questões econômicas, incluindo-se a comercialização de espécies ornamentais e animais de estimação (MMA, 2006).

Dentre os ecossistemas brasileiros ameaçados pela invasão biológica, os ambientes aquáticos continentais merecem especial atenção, uma vez que são reservatórios de água doce, um recurso natural limitado e essencial para a manutenção da vida e para a realização de inúmeras atividades econômicas. Além disso, ambientes límnicos são extremamente suscetíveis ao estabelecimento de espécies não nativas devido à forte relação entre os seres humanos e a água, como por exemplo para transporte, comércio ou recreação, e sobre tudo,

¹ *Procambarus clarkii* não está incluído nesta lista.

pela alta capacidade de dispersão das espécies límnicas (BEISEL, 2001; GHERARDI, 2006; LODGE *et al.*, 2006).

1.5 O lagostim de água doce *Procambarus clarkii*

Os lagostins de água doce são crustáceos decápodos que figuram entre os grupos com grande número de EEIs, tanto em ambientes lênticos quanto lóticos (NYSTRÖM *et al.*, 1996). Os impactos causados por estas espécies aos ecossistemas em que se estabelecem, comunidades e espécies nativas, foram identificados por inúmeros autores (NYSTRÖM, 1999; HARPER *et al.*, 2002; ILHÉU *et al.*, 2002; RODRÍGUEZ *et al.*, 2005; CAPURRO *et al.*, 2007; GHERARDI; ACQUISTAPACE, 2007), sendo a perda de biodiversidade o mais recorrente. Muitas das espécies são consideradas consumidores chave, alimentando-se de invertebrados bentônicos, algas, macrófitas e detritos, o que favorece a alta capacidade de impacto apresentada por estes crustáceos (NYSTRÖM *et al.*, 1996).

O principal motivo responsável pela introdução de lagostins de água doce em áreas diferentes de seus locais de ocorrência (vetor de introdução) é o seu interesse comercial. Muitas espécies são cultivadas para alimentação humana e/ou aquarismo (LOWERY; MENDES, 1977; BARBARESI; GHERARDI, 2000). Uma vez introduzidas, devido à habilidade da maioria das espécies de se integrar nas cadeias tróficas dos ambientes em que se estabelecem e a sua alta plasticidade ecológica, grande parte consegue colonizar novos habitats, tornando-se invasoras (MOYLE; LIGHT, 1996).

Dentre os lagostins invasores, *Procambarus. clarkii* Girard 1852 (Figura 3) é um dos casos de grande preocupação em diversas partes do mundo, devido ao potencial de impacto nos ambientes invadidos (ANGELEK *et al.*, 2001; SCHLEIFSTEIN; FEDELI, 2003; GEIGER *et al.*, 2005; RODRÍGUEZ *et al.*, 2005; GHERARDI; ACQUISTAPACE, 2007; PÍNTOR *et al.*, 2008). O principal vetor de introdução é a fuga ou liberação proposital de indivíduos criados para aquicultura, já que a espécie é utilizada para alimentação em inúmeros países (HENTTONEN; HUNER, 1999), além de servir como isca para pesca (LOUREIRO *et al.*, 2015a). A criação e comercialização para aquarismo é também um dos vetores de introdução bastante comuns (HENTTONEN; HUNER, 1999) e, especialmente no caso do Brasil, parece ser o principal fator de introdução desta espécie (LOUREIRO *et al.*, 2015a). No Quênia, estes animais também foram utilizados em programas de controle biológico, a fim de reduzir o número de gastrópodes que atuavam como hospedeiros intermediários do

platelminto parasito do gênero *Schistosoma*, causador da esquistossomose em seres humanos (LODGE *et al.*, 2000; APPLETON *et al.*, 2004).

Figura 3 - Exemplar de *Procambarus clarkii*
Figure 3- *Procambarus clarkii* individual



Fonte: Acervo pessoal da autora.

Procambarus clarkii é uma espécie de lagostim Norte-Americana cuja área de distribuição natural compreende a região centro-sul dos Estados Unidos e Nordeste do México (HOBBS *et al.*, 1989; HENTTONEN; HUNER, 1999; BOETS *et al.*, 2009) mas cuja distribuição não-nativa é enorme, compreendendo todos os continentes à exceção da Antártica e da Oceania (Figura 4). O Lagostim-Vermelho ocorre em diferentes tipos de ambientes limnicos naturais e artificiais: rios, riachos, banhados, lagos de diferentes dimensões, estuários, açudes e áreas irrigadas para agricultura (LOUREIRO *et al.*, 2015b). Sua ampla área de distribuição e ocorrência em diferentes tipos de corpos hídricos, que incluem locais tão distintos biótica e abioticamente, são reflexo da surpreendente plasticidade ecológica destes crustáceos e da sua notável tolerância a modificações ambientais (HOBBS *et al.*, 1989; SIESA *et al.*, 2011). Tamanha versatilidade demonstra uma elevada capacidade de adaptação a diferentes condições ambientais, (GHERARDI; PANOV, 2006; CRUZ; REBELO, 2007).

Os atributos bioecológicos que contribuem para a alta capacidade invasora apresentada por *P. clarkii* são: maturidade sexual precoce, altas taxas de crescimento, elevada fecundidade, hábito alimentar onívoro (GUTIÉRREZ-YURRITA; MONTES, 1999; LINDQVIST; HUNER, 1999; CORREIA, 2002; PAGLIANTI; GHERARDI, 2004; GHERARDI, 2006; AQUILONI; GHERARDI, 2008) e sua capacidade de regulação do ciclo reprodutivo de acordo com fatores ambientais como temperatura, pluviosidade e ciclo

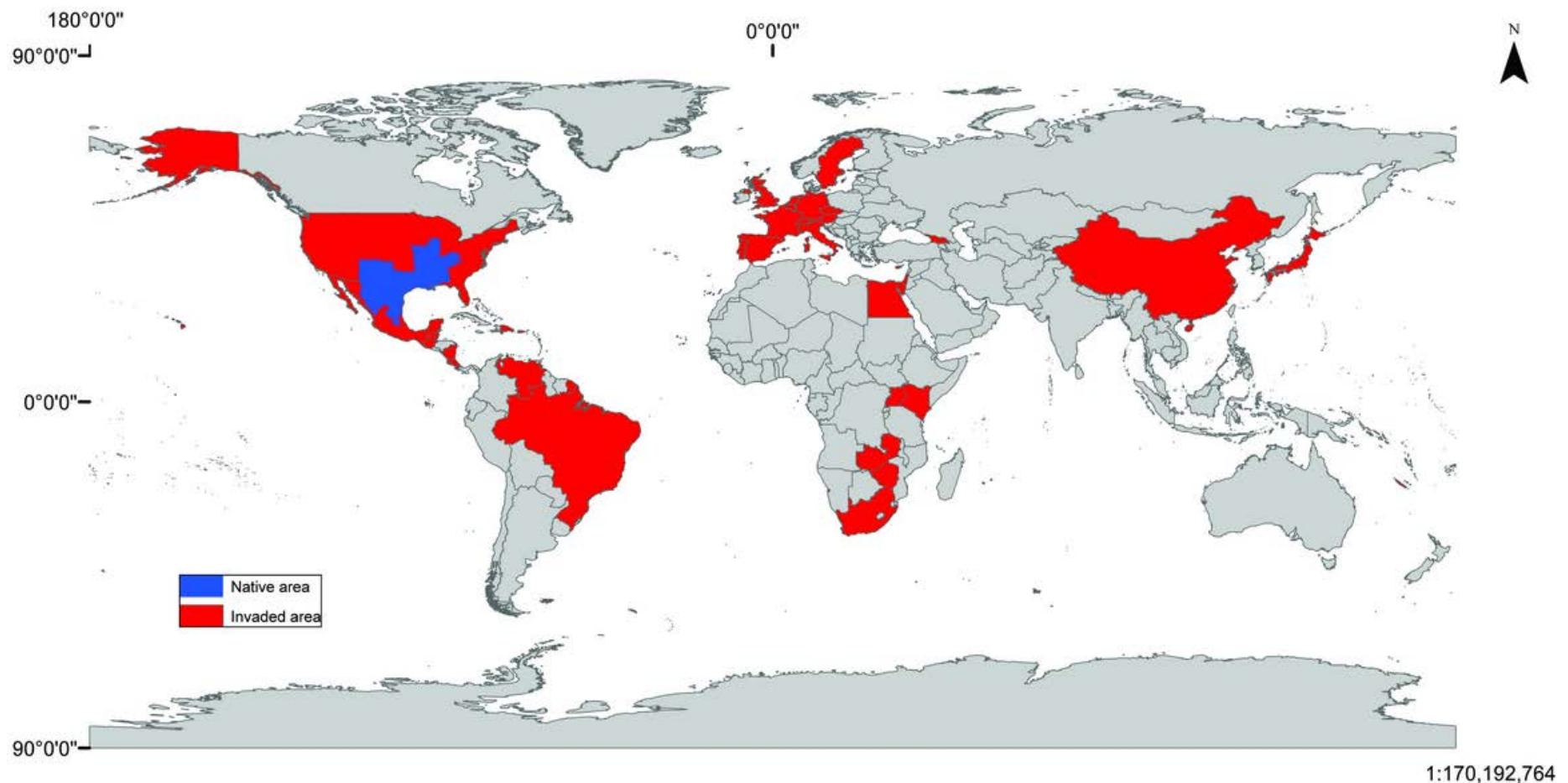
hidrológico (SOMMER, 1984; GUTIÉRREZ-YURRITA; MONTES, 1999). Muitos autores sugerem que esta última capacidade seria um dos aspectos ecofisiológicos mais importantes para o sucesso de colonização, invasão e estabelecimento desta espécie em habitats tão distintos (HUNER, 1988; ILHÉU; BERNARDO, 1995; ALCORLO *et al.*, 2008; ANASTÁCIO *et al.*, 2009).

Um dos principais problemas associados à introdução destes animais é o impacto à fauna nativa devido ao seu comportamento agressivo, alta competitividade e por ser um predador generalista e voraz (SOUTY-GROSSET *et al.*, 2006; GHERARDI; PANOV, 2009; CAMMÀ *et al.*, 2010; AQUILONI *et al.*, 2011; LONGSHAW, 2011). Dalosto *et al.* (2015) por exemplo, verificaram através de experimentos em laboratório, que *P. clarkii* vence todos os confrontos em que é colocado contra o lagostim sul americano *Parastacus brasiliensis*, acessa os recursos mais rapidamente e os domina por mais tempo. Schleifstein e Fedeli (2003) associam a presença de *P. clarkii* a inúmeras modificações em comunidades vegetais e animais. Sua grande capacidade competitiva e de predação estão associadas a quedas populacionais de diversas espécies de peixes (MUELLER *et al.*, 2006), anfíbios (CRUZ; REBELO, 2005, 2007), moluscos (GHERARDI; ACQUISTAPACE, 2007) e macroinvertebrados (CORREIA *et al.*, 2002).

Diferentes autores também associam o estabelecimento desta espécie à bioturbação, aumento da profundidade e da vazão de cursos d'água, degradação da qualidade da água e alterações nas características sedimentares devido ao seu comportamento escavador pronunciado (Figura 5) (ANGELER *et al.*, 2001; CRUZ; REBELO, 2007). Estas alterações ambientais acabam modificando todo o ecossistema aquático colonizado, suas funções e seus estados de equilíbrio, de forma que Angeler *et al.* (2001) e Geiger *et al.* (2005) associam inclusive a indução de florações de cianobactérias à presença de *P. clarkii*.

Outra questão associada ao impacto de *P. clarkii*, é a presença do oomycete *Aphanomyces astaci* Schikora, 1906, ao qual muitos crustáceos não são imunes e que transmite a doença conhecida como praga do lagostim (SOUTY-GROSSET *et al.*, 2006; GHERARDI; PANOV, 2009; CAMMÀ *et al.*, 2010; AQUILONI *et al.*, 2011; LONGSHAW, 2011). Na Europa, *P. clarkii* é tido como o principal fator contribuinte para o declínio das populações de lagostins nativos (*Austropotamobius pallipes* Lereboullet, 1858, *Astacus astacus* Linnaeus, 1758 e *Austropotamobius torrentium* Schrank, 1803), especialmente devido à transmissão do fungo supracitado e competição (GHERARDI, 2006). No Japão a introdução deste lagostim de água doce também dizimou populações de espécies nativas, como observado por Kawai e Kobayashi (2005).

Figura 4 - Distribuição global de *Procambarus clarkii*
Figure 4- Global distribution of *Procambarus clarkii*



Fonte: Loureiro *et al.* 20015b.

Notas: As áreas em azul representam a região de origem da espécie (área nativa) e as áreas em vermelho representam os países em que existem populações invasoras desta espécie (área não-nativa).

Além das ameaças à conservação da fauna, flora e funções ecossistêmicas dos ambientes colonizados, *P. clarkii* também apresenta um alto potencial de geração de impactos econômicos, que podem ser de forma direta, através dos recursos investidos em manejo, quanto indiretamente, em função de sua capacidade de afetar setores como a agricultura e a pesca (KETTUNEN *et al.*, 2009). Os danos à agricultura estão associados ao cultivo de espécies que dependem de áreas alagadas (e.g. arroz), já que nestes ambientes, o comportamento escavador pronunciado deste lagostim pode comprometer os sistemas de drenagem (SOMMER, 1984; CORREIA; FERREIRA, 1995). No setor de pesca, a colonização por *P. clarkii* está associada à redução das espécies de valor econômico pela predação de alevinos e danos a redes de pesca (MAEZONO; MIYASHITA, 2004).

Figura 5 - Tocas escavadas por *Procambarus clarkii*
Figure 5- *Procambarus clarkii* burrows



Fonte: Acervo pessoal da autora. Margem do lago localizado dentro do Parque Estadual do Jaraguá.

No Brasil, o principal vetor de introdução deste lagostim, popularmente conhecido como Lagostim-Vermelho ou Camarãozinho-Vermelho, é o comércio de animais de estimação e aquarismo, sendo que há indícios de que esta introdução tenha se iniciado há mais

de 20 anos (MAGALHÃES *et al.*, 2005; LOUREIRO *et al.* 2015a). Em 2007 o governo brasileiro decretou esta espécie como “invasora” e proibiu sua introdução, importação, comercialização, cultivo e transporte (IBAMA - Portaria nº. 5 de 28 de janeiro de 2008²), mas conforme demostrado por Loureiro *et al.* (2015a), a espécie continua sendo vendida ilegalmente.

São conhecidas até o momento 15 populações estabelecidas no Brasil (Figura 6), todas no estado de São Paulo, em áreas dentro do domínio da Mata Atlântica, sendo que uma delas se encontra em uma Unidade de Conservação (UC), o Parque Estadual do Jaraguá (PEJ) (SILVA; BUENO, 2005; MAGALHÃES *et al.*, 2005; BANCI *et al.*, 2013; LOUREIRO *et al.*, 2015a). Considerando o histórico de invasão de *P. clarkii* em outras regiões do globo e o fato de que a venda do Lagostim-Vermelho se mantém, mesmo que ilegalmente, ocorrendo em inúmeros estados brasileiros, é provável que a distribuição de *P. clarkii* no Brasil esteja sendo subestimada. Adicionalmente, Palaoro *et al.* (2013) evidenciaram o alto potencial de invasão da espécie na América do Sul, utilizando modelos de distribuição de espécies. As análises indicaram zonas vulneráveis para introdução e dispersão da espécie no sul da América do Sul (Argentina, Paraguai, Uruguai Chile e sul do Brasil). Dessa forma, faz-se necessário ampliar as frentes de investigação sobre a ecologia da invasão de *P. clarkii* no Brasil, para que planos de erradicação e/ou mitigação possam ser implementados.

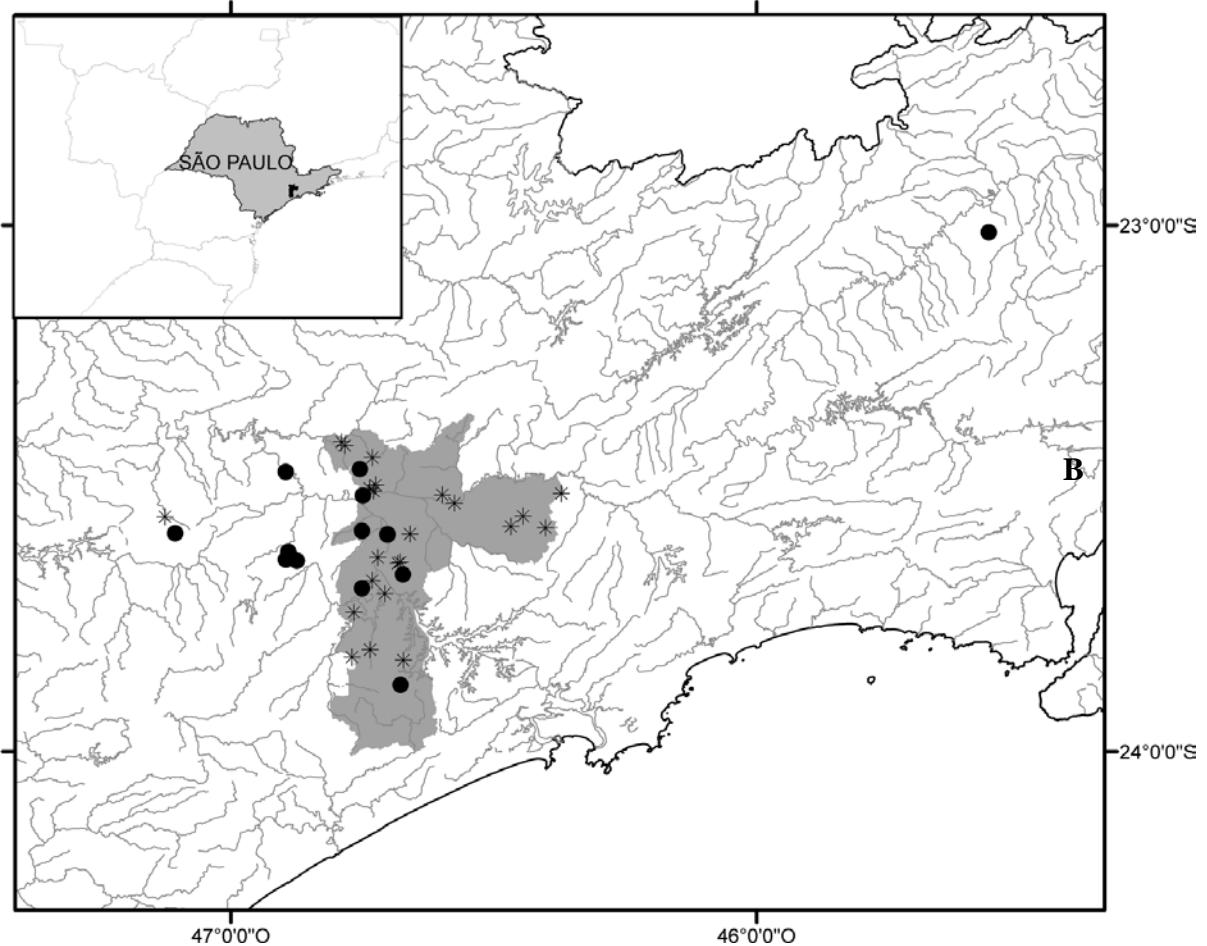
Nesse sentido, investigações sobre aspectos ecológicos e genéticos de EEIs são de extrema importância para o melhor entendimento do processo de invasão, estabelecimento e dispersão das mesmas (RICCIARDI; RASMUSSEN, 1998; ELTON, 2000; HAYES; SLIWA, 2003; MARCHETTI *et al.*, 2004; DEVIN; BEISEL, 2006). Todavia, os estudos referentes à biologia de invasão de *P. clarkii* no Brasil são escassos e se resumem a análises de distribuição e abundância populacional, de forma que a ecologia de invasão e potencial de impacto não foram analisados e pouco se pode extrapolar a partir dos estudos realizados em outros locais, em função da grande plasticidade apresentada por esta espécie.

O manejo de EEIs é imprescindível para a conservação da biodiversidade nativa e manutenção das funções ecossistêmicas. Para que sejam tomadas decisões quanto à forma de ação mais conveniente e para a definição de medidas prioritárias, alguns aspectos referentes à ecologia de invasão da espécie em questão devem ser compreendidos (BYERS *et al.*, 2002). Conforme sugerem Sakai *et al.* (2001), são eles: 1) aspectos referentes à abundância de EEIs em áreas não nativas, que indicam a taxa de crescimento populacional e sugerem o estágio de

² Ver Anexo I.

colonização em que o processo se encontra, além de indicar seu potencial de expansão; 2) dados relativos à ecologia trófica que podem auxiliar na previsão do impacto ambiental gerado através da pressão de predação e competição por recurso alimentar; 3) investigação da diversidade genética de EEIs que auxilia na compreensão dos mecanismos evolucionários pelos quais a mesma é capaz de se estabelecer e dispersar, assim como no entendimento sobre os padrões geográficos de invasão.

Figura 6 - Populações invasoras de *Procambarus clarkii* no Brasil
Figur 6- Invasive populations of *Procambarus clarkii* in Brazil



Fonte: Loureiro *et al.* 20015a.

Notas: **A.** Mapa do estado de São Paulo (em cinza), evidenciando a localização da cidade de São Paulo (em preto). **B.** Parte do estado de São Paulo com sua hidrografia. Em cinza está a área da cidade de São Paulo. Os pontos pretos representam as populações invasoras de *P. clarkii* conhecidas até o momento. Os asteriscos representam áreas que foram investigadas em 2013, mas onde não se encontrou evidências do estabelecimento deste lagostim.

1.6 Justificativa

A compreensão sobre um processo de invasão em andamento, que permita a definição das melhores estratégias para se lidar com este problema, depende do conhecimento de algumas questões básicas sobre a espécie e sobre como as populações de EEIs se comportam. Muitos pesquisadores e tomadores de decisão desenvolvem estratégias de manejo de EEIs utilizando informações obtidas pelo estudo de populações localizadas em outras áreas, mesmo que sob condições ambientais bastante diferentes, sem considerar que inúmeros fatores da dinâmica populacional, comportamento e biologia podem ser modificados em função das características bióticas e abióticas do novo habitat. Dados biológicos e populacionais podem auxiliar na construção de um panorama sobre a dinâmica de invasão da espécie e sua capacidade de dispersão, assim como servir como base para a posterior avaliação do potencial de impacto apresentado pela mesma, aspectos fundamentais para o desenvolvimento de estratégias de manejo e mitigação de impacto.

1.7 Objetivo geral

Este trabalho tem como objetivo levantar informações sobre a dinâmica populacional e a ecologia trófica de uma população da EEI *P. clarkii* estabelecida em uma UC de Mata Atlântica, avaliar a diversidade genética de 9 populações brasileiras e propor uma abordagem para manejo de invasão deste lagostim.

1.8 Objetivos específicos

- Definir, aperfeiçoar e padronizar um método de estimativa populacional;
- Avaliar a densidade e a taxa de crescimento populacional sazonalmente ao longo de 1 ano;
- Testar um método de controle populacional;
- Descrever a ecologia alimentar de *P. clarkii*;
- Relacionar a dieta com o potencial de invasão e de geração de impacto;
- Verificar a variabilidade genética de 9 populações estabelecidas no Brasil;
- Sumarizar o panorama legal existente sobre EEIs;
- Propor uma estratégia para manejo da invasão de *P. clarkii* no Brasil.

CAPÍTULO II

2 - Management of invasive populations of the freshwater crayfish *Procambarus clarkii* (Decapoda, Cambaridae): Test of a population-control method and proposal of a standard monitoring approach³

³ Este capítulo é composto por uma versão ampliada do manuscrito publicado no dia 30 de agosto de 2018 no volume nº 190 da revista *Environmental Monitoring and Assessment*. Ver LOUREIRO, T. G. et al. Management of invasive populations of the freshwater crayfish *Procambarus clarkii* (Decapoda, Cambaridae): test of a population-control method and proposal of a standard monitoring approach. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 190, n. 9, 2018. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10661-018-6942-6>>.

2.1 Abstract

Invasive species are one of the main threat to biodiversity. When an alien species is introduced into a new environment, fast identification and definition of management strategies may avoid or minimize impacts. When an invasive species is already established, the most adopted approaches are population control and monitoring. In order to perform such strategies, assessment of characteristics of the invasive population is imperative.

This study tested a new method of population size estimation and monitoring in an invasive population of crayfish *Procambarus clarkii* in a conservation area in the Atlantic Rain Forest (Southeastern Brazil). The population dynamics were studied for one year to examine the efficacy of the selected method and to evaluate if the population is stable. Later, the effect of periodical removal of animals on the population size was tested.

The method of population estimation used in this study proved to be very effective. We recommend using it to monitor invasive populations of *P. clarkii*. The population size varied discretely over the year with variable but low growth rate, indicating that the population is already established which introduce a notable threat to native species. The continuous removal of specimens proved to be inefficient since the growth rate was higher after the removal. One intensive removal event might be more effective than a continuous moderate removal as the one applied in this study.

Keywords: Abundance; Estimation; Exotic crayfish; Invasive alien species (IAS); Red Swamp Crayfish; Removal experiment.

2.2 Introduction

Humans have been responsible for species translocations and introductions since prehistory, carrying or transporting species of interest to new areas (DIAMOND, 2017; CROSBY, 2011). However, the number of such introductions considerably increased with improvements in transportation and with the consolidation of the international market. Furthermore, natural barriers are fading, mostly by human activities, and historically isolated species might become widespread and invasive (ELTON, 2000). Invasive alien species (IAS) are a major threat to biodiversity and are often capable of causing ecological and evolutionary changes, as well as expressive economic losses, making prevention the best practice (WILCOVE *et al.* 1998; PIMENTEL *et al.* 2005).

Once an IAS becomes established, management strategies can be applied to avoid or minimize impacts (BYERS *et al.* 2002; SIMBERLOFF *et al.* 2005). Eradication and population control are the most common approaches. The eradication targets the obliteration of the entire population and this strategy is more cost-effective on early phases of invasion. Population control aims to reduce the density and/or distribution of a particular population and when the invasive population is well established and abundant, this approach may be the best alternative.

In order to build a cost-effective action plan, the assessment of characteristics of the invasive population must be performed. Estimates of population size and growth rate are important metrics to determine which species should be prioritized for management since these features are related to distribution range expansion and impact severity (PARKER *et al.* 1999; RICCIARDI 2003; CHUMCHAL *et al.* 2005; PÍNTOR *et al.* 2009). Higher numbers of alien individuals (or biomass) frequently indicate greater resource usage and interactions with native species nevertheless this correlation is not necessarily linearly (PARKER *et al.* 1999; RICCIARDI 2003; CATFORD *et al.* 2009).

Monitoring IAS abundance is extremely important to understand the invasion process, predict the impact, and define management strategies. During the establishment process, alien species usually show increasing densities and then set into a lower equilibrium (FREELAND 1986). This mechanism is of great importance to understand the population dynamics during the invasion process and its abundance trajectory, pointing which factors may influence the population decrease and restraints to the final abundance of the invasive species (BYERS *et al.* 2002).

Population size is positively correlated to range in many biological groups including plants, grasshoppers, scale insects, hoverflies, bumblebees, moths, beetles, butterflies, birds, frogs, and mammals (HANSKI 1982; BROWN 1984; GASTON; HE, 2002), evidencing the importance of this population attribute in the field of biological invasion. The high abundance of exotic species can indicate the risk of invasive range expansion and may guide conservancy strategies and population prioritization. Another important piece of information provided by abundance analysis is the comparison of data from native and invasive ranges. This comparison may indicate whether an IAS performs better in invaded areas, compared with its native range, providing some insights about its invasion success.

Procambarus clarkii Girard 1852 is an invasive species known for its widespread distribution and strong impact on invaded environments (LOUREIRO *et al.*, 2015a; SOUTY-GROSSET *et al.*, 2016). This freshwater crayfish — also known as red swamp crayfish — is native to North America although established populations can be found in more than twenty countries in all continents except Australia and Antarctica (GHERARDI *et al.*, 2011; LOUREIRO *et al.*, 2015a). In Brazil, the occurrence of the red swamp crayfish has been recorded at seventeen sites, all in the state of São Paulo (BANCI *et al.*, 2013; LOUREIRO *et al.*, 2015b). The main vector of introduction of this species is the aquarium trade, followed by its use as fishing bait and as food (MAGALHÃES *et al.*, 2005; SILVA; BUENO, 2005; LOUREIRO *et al.*, 2015b).

The Red Swamp Crayfish may affect local biodiversity, trophic structure, and ecosystem functioning mostly by predation, competition, and transmission of diseases (DÖRN; WOJDAK, 2004; RODRÍGUEZ *et al.*, 2005; GHERARDI; ACQUISTAPACE, 2007; LONGSHAW, 2011). Furthermore, its burrowing behavior can modify freshwater habitats by increasing suspended solids and turbidity, decreasing light penetration (ANASTÁCIO; MARQUES, 1997; ANGELER *et al.*, 2001; RODRÍGUEZ *et al.*, 2003). Therefore, threats originated by this species must be considered highly harmful and prioritized during conservation actions.

Many researchers and conservancy groups indicate the periodical removal of individuals in order to control invasive populations of *P. clarkii* and to reduce the ecological impact promoted by this species (WESTMAN *et al.*, 1978; 1979; HOLDICH *et al.*, 1999; GHERARDI *et al.*, 2011). However, the effect of removal was never tested and there is no information regarding population abundance response to this strategy.

This research aims to 1) investigate the seasonal dynamics of an invasive population of *P. clarkii* in a conservation area in the Atlantic Rain Forest for one year, evaluating

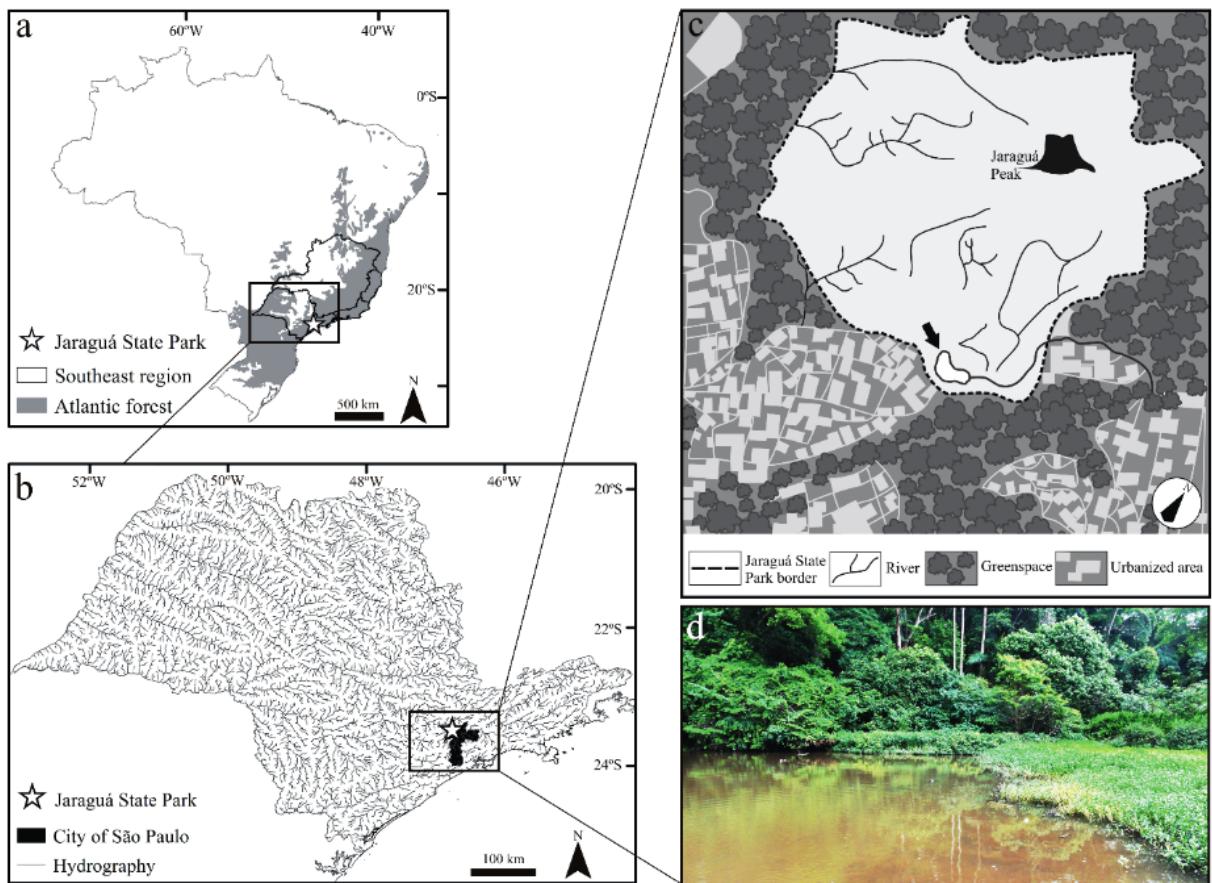
whether it is stable or is still growing; 2) test a new method of population estimation and monitoring of the invasive red swamp crayfish; and 3) evaluate the effect of the periodical removal of animals on population abundance and growth rate. By reaching these goals, this study will bring important scientific information regarding the invasion process of *P. clarkii* and its severity. It also proposes an easy and low-cost estimation method to be used as a standard population monitoring approach, as well as brings insights for policymakers and management plan developers to delineate strategies regarding *P. clarkii* invasion.

2.3 Methods

2.3.1 Study site

The study was performed at JSP, a rainforest conservation area of 4.93 Km² located near the north-western city limits of São Paulo, Brazil (23°27'49.47"S - 46°45'17.86" W) (Figure 7a, b). The average altitude is 900 m (range of 735 m–1,125 m), the climate is CfB (Temperate Oceanic Climate) type according to Köppen's (1948) classification with an annual average temperature of 20°C and the annual precipitation of 1500 mm–1600 mm (ROQUE *et al.*, 2003). A 1,058-m² natural pond located in a lower area of the park was selected for the field study (Figure 7c, d). The bottom is typically muddy with deposits of detritus. Previous field surveys performed in July 2012, March, and May 2013 revealed that *P. clarkii* was present in the pond (LOUREIRO *et al.*, 2015b). However, no previous population assessments were conducted and there is no information regarding the time and source of introduction. The water level of the pond is kept constant throughout the year by a concrete drainage wall serving as an outlet. The water excess that is constantly overflowing the outlet leaves the park as a small stream that flows through an indigenous community whose inhabitants are used to feed on the crayfish.

Figure 7 - Geographic location of Jaraguá State Park and area details⁴
Figura 7- Localização geográfica do PEJ e detalhamento da área⁴



Fonte: (LOUREIRO *et al.*, 2018, p.3).

2.3.2 Sampling technique

Twenty-five traps made of aluminium framework and fine plastic nets (Figure 8) were set in place underwater late in the afternoon and checked in the following morning for the presence of specimens. Dry fish-flavored cat food was used as bait (BUENO *et al.*, 2007) and placed in perforated plastic tubular containers, which were hung on the inner top of each trap. Every following afternoon, baits were replaced with fresh ones. Baits which were used and hydrated were put in a plastic bag and properly discarded outside the study area.

Live adult females were inspected for brooded eggs or early juveniles attached to the pleopods (maternal care). Since no ovigerous females were captured during the field work

⁴ a: Map of Brazil with Southeast States borders in black, the Atlantic forest area in grey and the location of the study area marked with the star. b: The State of São Paulo, with the hydrography. In black is the area of the city of São Paulo and the star indicates the Jaraguá State Park. c: Schematic map of the Jaraguá State Park evidencing the Jaraguá Peak, the highest point of the city of São Paulo, the freshwater bodies inside the park and the lake where this study was carried out (indicated by the black arrow). This schematic figure also includes the urbanized area and the greenspace around the park. d: Picture of the lake in the Jaraguá State Park.

(see “Results”), the reproductive period was inferred based on the sequential months in which younglings were found attached to the females’ pleopods.

Figure 8 - Traps used to capture crayfish
Figura 8- Armadilhas utilizadas para a captura dos lagostins



Fonte: Acervo da autora.

2.3.3 Population size estimates and data analysis

Four seasonal population-size estimations were performed for one year, from spring 2013 to winter 2014 (Table 1). To estimate the population size, the Schumacher-Eschmeyer method for closed populations was used, which is based on multiple capture-recapture events. This method requires that specific assumptions are met so that population size remains constant during the investigation period, in a way that interference of migrations, mortality, and recruitment are negligible (SEBER 1982, 1986; KREBS, 1999). To meet these assumptions, a 4-mm mesh size net was fixed to the wall outlet to isolate and prevent crayfishes from leaving or entering the study area during each sampling occasion.

A rowing boat was used to facilitate the transportation of traps which were randomly distributed along the edges (22 traps) and in the middle of the pond (three traps), corresponding to seven sampling stations previously established on the pond.

Unmarked crayfishes were marked with a mixture of super glue (cyanoacrylate) and commercial dye (fine silver powder) prepared immediately before use (BUENO *et al.*, 2007) (Figure 9). At each successive sampling day, the number of marked individuals was recorded and unmarked specimens were counted and then marked. Both marked and newly marked individuals were released back in the same sampling station they came from to promote, as much as possible, an even mixing of marked animals within the population (SEBER, 1982). There was a possibility that newly-marked individuals could accidentally enter an unchecked trap after being released into the pond. To avoid counting twice a marked individual, the marks were made in different positions each day, thus the capture-recapture history of any individual could be easily retrieved (SEBER, 1982).

Figure 9 - A marked individual of *Procambarus clarkii*
Figura 9 – Indivíduo de *Procambarus clarkii* marcado



Fonte: Acervo da autora.

Each sampling period had a minimum of six days. The first day was used only for setting the traps, and the next five days were used for the capture/recapture procedures, to minimize loss of the marks due to molting (BUENO *et al.*, 2007; COHEN *et al.*, 2013).

All terms and calculations used in the Schumacher and Eschmeyer method are in accordance to Krebs (1999).

Table 1 – Abundance data from seasonal estimations
Tabela 1 – Abundância sazonal

Estimation	Date	Abundance (N)	95% confidence limits		p-value	Populational growth rate (r)
			Lower limit (L _l)	Upper limit (L _u)		
Spring	26/11-2/12/2013	913.57	845.20	993.97	1.44E-07	-
Summer	3-9/02/2014	957.00	737.24	1363.39	2.85E-04	r ₁ = 0.05
Autumn	21-27/05/2014	1217.75	836.67	2236.28	1.67E-03	r ₂ = 0.24
Winter	6-12/09/2014	1119.66	813.74	1794.14	4.95E-04	r ₃ = -0.08
Spring*	24-28/11/2015	3479.03	2135.46	9381.80	1.98E-03	r ₄ **= 1.13

Fonte: (LOUREIRO *et al.*, 2018, p.5).

Notas: * Estimation after the removal experiment. ** Population growth rate from the last estimation prior to the removal experiment to the estimation after annual removal

Population size was calculated as:

$$\hat{N} = \frac{\sum_{t=1}^s (C_t M_t^2)}{\sum_{t=1}^s (R_t M_t)}$$

where C_t is the total number of individuals captured in the t^{th} sampling; M_t is the accumulated number of marked animals previously set free in the environment by the time of t^{th} sampling; R_t is the number of marked individuals captured in the t^{th} sampling. To calculate 95% confidence intervals around the population size estimate, reciprocals of the results obtained from the normal approximation were used through the critical value of the Student's t distribution ($\alpha = 0.05$) in the formula $1/\hat{N} \pm tth, SE$, where

$$SE \text{ (standard error) of } \left(\frac{1}{\hat{N}} \right) = \sqrt{\frac{\text{variance of } \left(\frac{1}{\hat{N}} \right)}{\sum_{t=1}^s (C_t M_t^2)}}$$

$$\text{Variance of } \left(\frac{1}{\hat{N}} \right) = \frac{\sum_{t=1}^s (R_t^2 / C_t) - \left[\left(\sum_{t=1}^s R_t M_t \right)^2 / \sum_{t=1}^s C_t M_t^2 \right]}{s-2}$$

and $(s-2)$ degrees of freedom, where s is the number of samples.

The adequacy of the Schumacher and Eschmeyer method for each season estimation was tested by applying a through-the-origin regression (ZAR, 2010) between the proportion of marked animals in the samples and the cumulative number of marked animals (KREBS, 1999). A significant linear relationship between these variables indicates that the assumptions required to validate the method under field conditions have been met (SEBER, 1982; KREBS, 1999).

The population growth rates (r) were based on the estimation of population abundance according to the formula: $r = \log_e(N_{t+1}/N_t)$ (SIBLY; HONE, 2002), where t is the time (estimation event) and $t+1$ is the next estimation. In this model, individuals are considered equivalent, with same death and reproductive probability in a closed system which has no migration events.

2.3.4 Removal experiment and data analysis

After the seasonal population estimates described above, a monthly removal of individuals was performed from October 2014 to October 2015 to verify its effects on population abundance. Each sampling lasted two days, one to install the traps and one to retrieve the captured animals. The procedure was the same described previously (Section 2.3.2); however, 14 baited traps were used instead of 25. Traps were randomly distributed along the pond. All captured animals were immediately preserved in 100% ethanol. The carapace length (CL- including rostrum) of each animal was measured to the nearest 0.01 mm using a digital calliper. Sex determination was based on the position of genital pores which are located on the coxopodite of the third pair of pereiopods in females and on the fifth pair of pereiopods in males (HOLDICH; LOWERY, 1988). Sexes were also distinguished by the modification of the first and second pair of pleopods on males, which forms a copulatory organ, and by the presence of *annulus ventralis* located ventrally between the posterior

walking legs in females (SUKÔ, 1953; HUNER, 1981). The total number of specimens, the number of males and females captured each month were recorded.

After the monthly removal of individuals, a new population estimate was performed in November 2015 (spring) to verify the removal effect on population size.

2.4 Results

2.4.1 Population size estimation

Field data from all estimations of population abundance are shown in Table 2. Linear regressions of R_t/C_t on M_t obtained in all population size estimates were significant (Figure 10a-e), indicating that the assumptions to validate the use of Schumacher and Eschmeyer method were met. Based on these results, it can be accepted that the population size remained constant during each estimation period, having no or negligible influence of possible interference caused by migration, death, recruitment, and loss of marks. The high significance of the estimates is also supported by the narrow 95% upper and lower confidence intervals around each estimate (Table 1).

The estimated abundance and density obtained in each field study are presented in Table 1. Rounded estimates of population size during the period of 2013–2014 varied from 913 crayfishes in the spring of 2013 to 1,217 crayfishes in the autumn of 2014 (Table 1). The population growth rate was lower from spring to summer ($r_1 = 0.05$) and higher from summer to autumn ($r_2 = 0.24$).

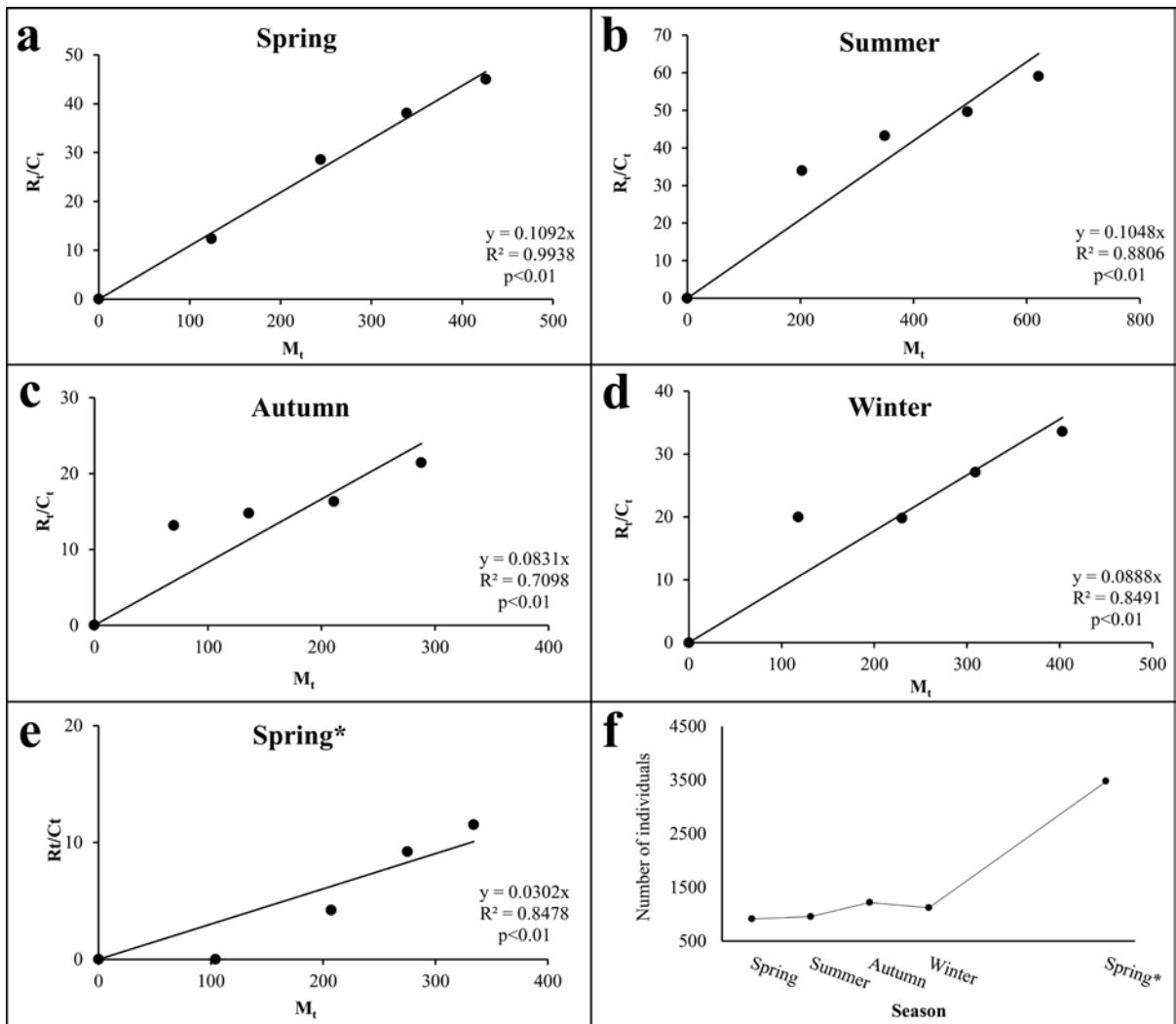
No ovigerous females were captured during the whole study. Six females with hatchlings attached to pleopods were found only in autumn.

2.4.2 Removal experiment

From October 2014 to October 2015, 1,799 individuals were removed from the population (957 males and 842 females; Table 3), with an average of 128 (± 28.6 SD) crayfishes removed per month (Table 3). The maximum number of captured animals was 196 in January 2015 and the minimum was 105 individuals in May 2015 (Table 3). The total number of crayfishes captured over the 13 months of removal effort ($N = 1,799$) was higher than the population size estimated in the previous month prior to the beginning of the removal experiment ($N = 1,119.66$; Table 1).

After the annual removal effort, the estimated population abundance was 3,479 individuals (Table 1; Figure 10f). The population growth rate from the last estimative prior to the removal (winter 2014) to the present (spring 2015) was equal to 1.13 (Table 1).

Figure 10 - Regression of abundance estimations and estimated abundance in each season
Figura 10 – Regressão das estimativas populacionais e valores sazonais de abundância



Fonte: (LOUREIRO *et al.*, 2018, p.7).

Notas: **a-e:** Scatter plots show regression lines of seasonal estimates of population abundance. The axes are the proportion of recaptured animals (R_t / C_t) and the total number of marked animals (M_t). Linear equation through-the-origin, regression significance (p) and coefficient of determination (R^2). **f:** Estimated abundance in each season and after the removal experiment (*).

* Estimation after the removal experiment.

Table 2 - Field data used to calculate population abundance at each estimation
Tabela 2- Dados utilizados para calcular a abundância em cada estimativa

Estimation	Sampling day	C _t	R _t	Nº of newly marked individuals	M _t	R _t /C _t *100
Spring	1st	130	0	124	0	0
	2nd	138	17	120	124	12.32
	3rd	133	38	95	244	28.57
	4th	142	54	87	339	38.03
	5th	120	54	66	426	45
Summer	1st	204	0	203	0	0
	2nd	221	75	146	203	33.94
	3rd	259	112	146	349	43.24
	4th	250	124	126	495	49.6
	5th	254	150	104	621	59.06
Autumn	1st	70	0	70	0	0
	2nd	76	10	66	70	13.16
	3rd	88	13	75	136	14.77
	4th	92	15	77	211	16.3
	5th	98	21	77	288	21.43
Winter	1st	118	0	118	0	0
	2nd	140	28	112	118	20
	3rd	101	20	79	230	19.8
	4th	129	35	94	309	27.13
	5th	125	42	81	403	33.6
Spring*	1st	104	0	104	0	0
	2nd	103	0	103	104	0
	3rd	71	3	68	207	4.23
	4th	65	6	59	275	9.23
	5th	52	6	0	334	11.54

Fonte: (LOUREIRO *et al.*, 2018, p.6).

Notas: C_t - number of captured animals; R_t - number of recaptured animals; M_t – number of marked individuals; R_t / C_t – proportion of recaptured animals.

2.5 Discussion

The estimation method and marking technique used in this study proved to be efficient, easy, and low-cost. We recommend the use of this method for further abundance estimations of invasive populations of *P. clarkii*, especially considering that the application of the same estimation method is of great importance to compare results across areas and over time. As it is important to estimate population parameters in a short period to avoid mark losses due to ecdysis, we recommend six days of sampling, which is also the minimum period of time necessary for a robust result.

Indeed, there are other estimation methods which are much more accurate and refined if the goal is to deeply understand population dynamics and ecology. However, in this research we prioritized a method that is easy to apply and less time- and money-consuming to facilitate usage, not only by other researchers, but also by technical staff from government and conservation organizations.

It should also be emphasized that field estimates may not express the actual proportion of all life stages of a population. These estimates may actually express “the catchable portion of the population only” (SEBER, 1982, p. 72). This may explain why juveniles (Table 3) and adult females bearing juvenile (maternal care) were poorly sampled. In addition, no ovigerous females were sampled in all five estimates and during the period of monthly samplings. This suggests possible influences of the sampling technique as well as behavioral variations among different life stages. It is known that female crayfishes, especially when ovigerous, are less active than males (HOLDICH; LOWERY, 1988), and biased results of size estimation may occur when equal capture opportunity are not held among specific life stages of the population. However, if the goal is to monitor population growth through time, compare different invasive populations, and define conservation priorities and strategies, the method used herein proved to be very effective and easy to employ.

In the current study, few females carrying hatchlings were found and only in autumn. This small number might be due to the change in behavior during the reproductive period. Ovigerous females tend to seek shelter inside burrows to protect themselves and their offspring (NIQUETTE; D'ABRAMO, 1991; CORREIA; FERREIRA, 1995; CANO; OCETE, 1997; FIDALGO *et al.*, 2001).

Table 3 - Number of *Procambarus clarkii* captured per month
Tabela 3 – Número de indivíduos capturados por mês

	2014			2015										total
	Oct	Nov	Dec	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	
Nm	60	56	111	110	78	71	69	56	82	62	61	62	79	957
Nf	58	53	73	86	54	57	58	49	86	69	68	55	76	842
Nc	118	109	184	196	132	128	127	105	168	131	129	117	155	1799
PS%	10.54	9.73	16.43	17.5	11.79	11.43	11.34	9.38	15	11.7	11.52	10.45	13.84	160.67

Fonte: (LOUREIRO *et al.*, 2018, p.7).

Notas: Field data from monthly captures containing the number of males (Nm), females (Nf), total number of animals (Nc) removed from the population in each month and the percentage of captured animals from total population based on the last seasonal estimation prior to the beginning of the removal experiment (winter 2014) (PS%).

Procambarus clarkii is known for its ecological plasticity; the species adapts its reproductive strategy, mating period, recruitment, and sexual maturation according to hydrographic period and environmental conditions (SOMMER, 1984; ALCORLO *et al.*, 2008; LOUREIRO *et al.*, 2015a). This species might lay eggs any time throughout the year but mostly do during autumn and winter in their native range (HOLDICH; LOWERY, 1988). However, in the population established at Alfredo Volpi City Park (São Paulo, Brazil), Silva and Bueno (2005) noticed that the reproductive period starts in the late spring and extends until mid-summer. In the Jaraguá State Park we also believe that the reproductive period is concentrated in late spring and summer (personal observation) and the hatchlings captured must have come from the spring/summer cohort. Reproduction of *P. clarkii* concentrated in spring and summer was also observed in other invaded regions such as Portugal, France, and Spain (HENTTONEN; HUNER, 1999; FIDALGO *et al.*, 2001).

Despite common sense that pictures invasive species as organisms that can easily colonize, establish, and multiply wherever they are introduced, most alien species are not capable of establishing a viable population; if they manage to colonize a new area, they are rarely abundant (HANSEN *et al.*, 2013). Unfortunately, that is not the case of *P. clarkii*, a wide-range species that shows a narrow habitat specificity. In this study, seasonal population estimates were fairly close to one another (Table 1). Data indicate that the invasive population is well established in the Park. Unlike previous research performed in another population in the city of São Paulo, in which higher abundances during winter seasons and lower abundances in summer were found (SILVA; BUENO, 2005), we did not observe any seasonal variation in abundance.

The increase in population abundance and growth rate seems to be more related to recruitment than to seasonal environment variables since the higher abundance was in

autumn, which is the season that follows the reproductive period (Table 1). The population growth rate (r) increased slightly from one season to the next, except for the autumn to winter (Table 1), when it was negative but very close to zero. The highest growth rate was found from summer to autumn ($r_2 = 0.24$), probably due to the recruitment from spring/summer cohort.

The evaluation of the risk offered by an invasive species is frequently based on range distribution and abundance (STOHLGREN; SCHNASE, 2006). An important assumption related to the continuously increasing abundance observed here is the connection between abundance and distribution. Several studies indicate a positive association between abundance and range size (HANSKI 1982; BOCK; RICKLEFS, 1983; GASTON *et al.*, 1997; HANSEN *et al.*, 2013), indicating that the studied population might be able to expand its area of occupancy. Therefore, the threat posed by *P. clarkii* may not be located exclusively inside the park since the river that flows from the pond can act as a corridor for its dispersion.

The abundance recorded in seasonal population size estimations was quite high and similar to each other. This finding demonstrates that the invasive *P. clarkii* population is already established and, although slowly, is still growing in the Jaraguá State Park. This Park is a conservation area in the Atlantic Forest that hosts many native species of plants and animals, including the endangered crustacean *Aegla jaragua* Moraes, Tavares and Bueno in Moraes *et al.* (2016). This species is a native and endemic crustacean whose distribution is restricted to the type-locality (Pai Zé stream, Jaraguá State Park) and assigned as critically endangered according to IUCN criteria (MORAES *et al.*, 2016). Moreover, policymakers should be aware of this invasion process since *P. clarkii* is potentially harmful; preventing or slowing the secondary spread must be prioritized to avoid new invasions.

Since species invasions may lead to changes in the receptor ecosystem, complete removal of alien species may leave an open niche that favors new invasions by the same or different species. Thus, population control would be the best practice to manage areas invaded by *P. clarkii* until a better understanding of its interactions in invaded ecosystems is available. The main options used to reduce populations of this invasive crayfish include physical, chemical, and biological methods, whereas the first is less aggressive to the ecosystem and to other species (GHERARDI *et al.*, 2011).

The physical approach is the most used strategy for population control and is usually based on removal campaigns using traps, fyke or seine nets and electro-fishing (WESTMAN *et al.*, 1978; 1979). This is the reason why we tested the effect of continuous removal in the population.

After the monthly removal of animals, the population grew with a remarkable growth rate ($r_4^{**} = 1.13$, Table 1). The estimated abundance (3,479 individuals) was high, in comparison to the last abundance estimated prior to the removal experiment, and three times higher than the winter estimate (Figure 10f). This result indicates that the continuous removal of specimens does not negatively affect population growth and this strategy will not be effective for the control of *P. clarkii*. On the contrary, the management experiment seems to have contributed to the increase in population size.

The increased population size after animal removal might be a result of a feedback mechanism in which crayfishes, as might occur with other animals, perceive the decrease in population abundance and invest in reproductive strategies such as increased eggs production and precocious sexual maturity (SKURDAL; QVENILD, 1986; HOLDICH *et al.*, 1999; GHERARDI *et al.*, 2011). Thus, intensive trapping and capture might be more effective than investing in extensive capture like we performed in this study. Intensive capture could prevent the population response by avoiding the enhanced investment on reproduction if the population has no time to perceive and respond to the removal.

CAPÍTULO III

3 - Food matters:

Trophodynamics and the role of diet in *Procambarus clarkii*
invasion success in an Atlantic Forest conservation area⁵

TAINÁ GONÇALVES LOUREIRO, PEDRO MANUEL ANASTÁCIO, SÉRGIO LUIZ DE SIQUEIRA
BUENO, CAMILA TIMM WOOD and PAULA BEATRIZ ARAUJO

⁵ Este capítulo é composto por uma versão ampliada do manuscrito submetido para a revista *Limnologica - Ecology and Management of Inland Waters* no dia 14 de setembro de 2018.

3.1 Abstract

Procambarus clarkii is an important invasive freshwater species whose ecological plasticity allows its establishment in different kinds of environments; such plasticity is also reflected on diet with two main consequences: invasion success and impact on native biota. In order to investigate *P. clarkii*'s feeding habits, examine how its diet varies seasonally and among different demographic groups (reproductive males, non-reproductive males and females), we investigated the trophic role of this species in an Atlantic Forest conservation area in the city of São Paulo (Brazil). A total of 540 specimens collected monthly over a year were measured and weighed. Their stomachs were weighed and classified according to the stomach degree of fullness. Stomach contents were examined, discriminated as animal or plant matter, and weighed. Food items were identified to the lowest possible taxonomic level and the percentage of occurrence of each item was calculated, as well as the diet diversity. Monthly collected data were compared according to seasons and demographic groups through the Analysis of Similarity (ANOSIM) and Similarity Percentage Analysis (SIMPER). The percentage of animal weight attributed to stomach weight and the degree of fullness of stomachs did not vary significantly among seasons; however, non-reproductive males had significantly less filled stomachs. Diet composition was evenly balanced between plant and animal material for both reproductive males and females, while non-reproductive males consumed a lower proportion of animal matter. The diversity in diet composition was high in all seasons and for all groups, although always slightly lower for non-reproductive males. The percentage of occurrence of food items evidenced high consumption of algae and macrophytes along the year. It also reflected the seasonal variation on prey composition, which switches from insects and microcrustaceans in spring and summer to decapods and amphibians in fall and winter. The dissimilarity in diet composition is more marked among groups than among seasons, being NRM the most different, accessing less evasive prey. Nonetheless, winter differs from other seasons and is the season with least different food composition among groups, indicating a homogenization in diet composition, which might be due to restricted availability of resources. *Procambarus clarkii* at Jaraguá State Park demonstrated a conspicuous dietary variability and flexibility. The occurrence of remarkably filled stomachs indicate that food resources are not a constriction for this population. The species presented a diversified and adaptable diet, foraging on algae, macrophytes and preying on different vertebrate and invertebrate taxa. Its trophic plasticity favors the

successful establishment in invaded areas and summed to its notable voracity, *P. clarkii* offers a wide, variable and significant interaction in food webs, being able to generate major impacts on native groups by its feeding habits.

KEYWORDS: invasive alien species (IAS), Red Swamp Crayfish, feeding habits, diet composition, trophic ecology, stomach degree of fullness (SDF).

3.2 Introduction

The red swamp crayfish *Procambarus clarkii* Girard, 1852 is native to North America (central southern United States and northeastern Mexico) and invasive species in four continents; this freshwater species is very appreciated on culinary and used on the aquarium trade (GHERARDI *et al.*, 2011; LOUREIRO *et al.*, 2015a). Its economic importance is the main reason it is so widespread worldwide (HOBBS; LODGE, 2010; HÄNFLING *et al.*, 2011). Many ecological characteristics contribute to its success of establishment on distinct types of environment, ranging from diverse feeding strategies to the capability of adjusting its reproductive strategy, aggressiveness and burrowing behavior according to environmental characteristics (GUTIÉRREZ-YURRITA *et al.*, 1998; ALCORLO *et al.*, 2004; GHERARDI, 2006; LOUREIRO *et al.*, 2015a).

Impacts associated to *P. clarkii* establishment are diverse, but mostly related to predation, competition, and transmission of diseases (DÖRN; WOJDAK, 2004; RODRÍGUEZ *et al.*, 2005; GHERARDI; ACQUISTAPACE, 2007; LONGSHAW, 2011). Focusing on predation consequences, the feeding interactions may have ubiquitous effects on species richness, and ecosystem productivity and stability (RICKLEFS, 2008). Indeed, crayfish species are known to induce profound changes in ecosystem organization and functioning since they are considered key species, able to control the energy flow in invaded environments (OLSEN *et al.*, 1991; MOMOT, 1995; SOUTY-GROSSET *et al.*, 2016).

Besides the association between foraging ecology and impact, diet is also related to invasion successes and severity (ZHANG *et al.*, 2010). The capability of crayfish to reach high densities is correlated to two main aspects: the great adjustability of the crayfish metabolic system that can use energy from different sources (animal and plant) (MUSGROVE, 1988;) and the polytrophic feeding habits that confers them a great feeding plasticity, by interchanging among detritivory, herbivory, and carnivory (MOMOT, 1995). *Procambarus clarkii* is recorded to feed on plant and animal detritus, macrophytes and live animals such as molluscs, insects, annelids, nematodes, platyhelminthes, tadpoles, frogs, fingerlings and other crustaceans (GUTIÉRREZ-YURRITA *et al.*, 1998, PARKYN *et al.*, 2001; CORREIA, 2002; ALCORLO *et al.*, 2004; CRUZ; REBELO, 2005; BANCI *et al.*, 2013). Furthermore, understanding seasonal and intrapopulation variations of feeding strategies and identifying the periods with food scarcity, may facilitate management through intensive population control during these periods. This approach can enhance the effects of population control and reduce money and labor investment.

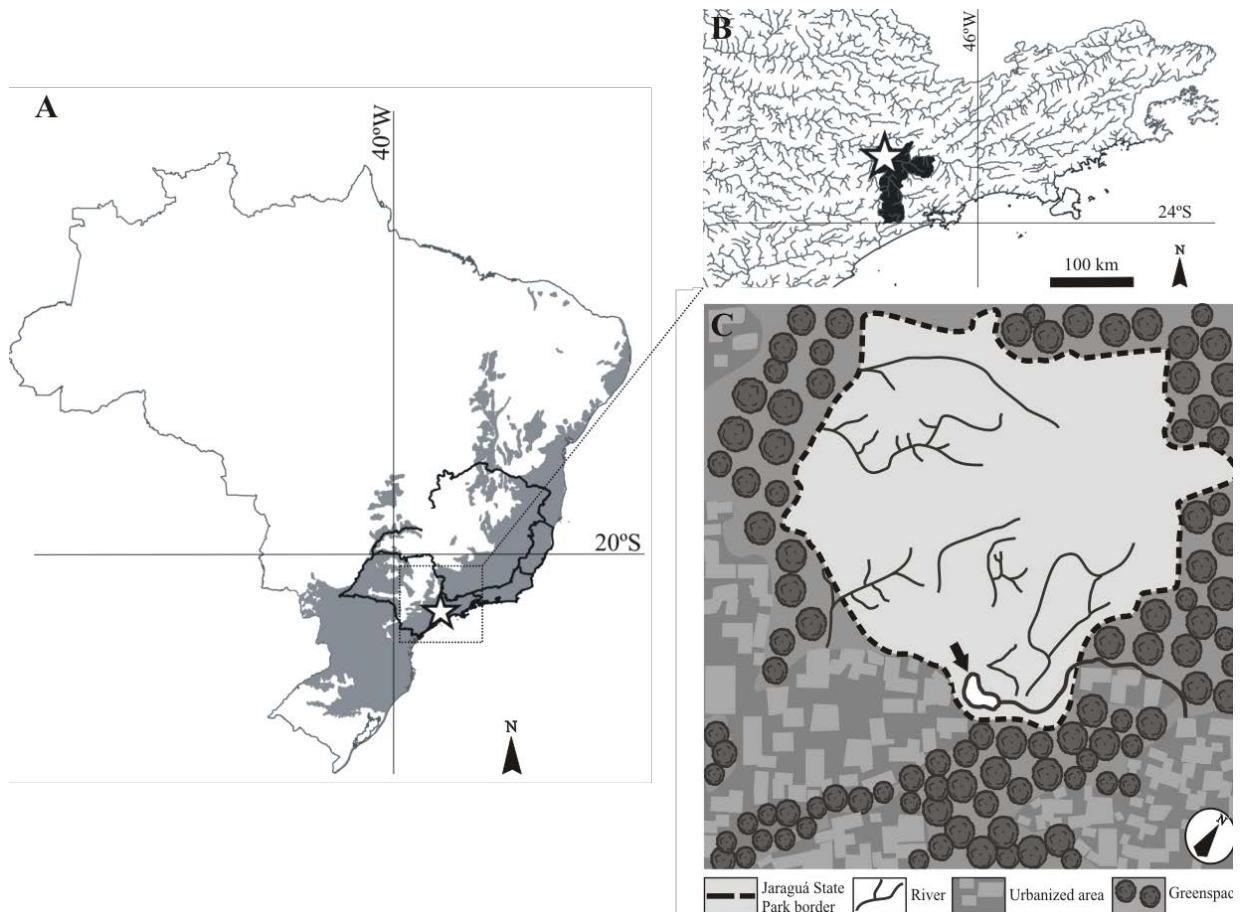
In Brazil, seventeen invaded locations are known so far, all in the state of São Paulo (BANCI *et al.*, 2013; LOUREIRO *et al.*, 2015b) and very little information is available regarding the ecology and impacts of *P. clarkii* in Brazilian environments. Considering the great ecological plasticity and capability to change and adequate its ecological traits to different types of habitats (ALCORLO *et al.*, 2004; LOUREIRO *et al.*, 2015a), it is important to investigate *P. clarkii*'s feeding ecology in Brazil. Hence, this study intends to complement studies regarding The Red swamp crayfish feeding ecology and diet in a natural habitat, investigating feeding habits and seasonal variation, relating these aspects to potential harm and identifying the most threatened groups. Also, we aim to identify the period in which animals are most vulnerable and when population control efforts should be focused.

3.3 Material and methods

3.3.1 Study site and field work

Procambarus clarkii individuals were collected monthly from December 2013 to November 2014 from a 1,058-m² natural eutrophic pond (1,058-m²), located in the JSP, an Atlantic Forest conservation area in the state of São Paulo, Brazil ($23^{\circ}27'49.47"S$ - $46^{\circ}45'17.86"W$) (Figure 11). The park has an area of 4.93 km² and the average altitude is 900 m (range of 735 m–1,125 m). The climate is CfB (Temperate Oceanic Climate) type according to Köppen's (1948) classification with an annual average temperature of 20 °C and an annual precipitation of 1500 mm–1600 mm (ROQUE *et al.*, 2003).

Figure 11 - Study area location
Figura 11 – Área de estudo



Fonte: LOUREIRO, T. G. *et al.* (*forthcoming*).

Notas: A. Map of Brazil with the region that corresponds to the Atlantic Forest hatched in gray. The States that comprise the Southeast region are delimited by the black line and the star exhibits the location of the study area.
 B. Partial area of the State of São Paulo with hydrography and the area of the City of São Paulo (hatched in black). The

star indicates the JSP. **C.** Schematic map of the JPS evidencing the freshwater bodies inside the park and the lake where this study was carried out (indicated by the black arrow). This schematic figure also includes the urbanized area and the greenspace around the park.

Animals were captured with the aid of baited traps set underwater late in the afternoon and removed in the following morning. To attract crayfish towards the traps, we filled tubular canisters with dry fish-flavored cat food. The bait canisters had tiny perforation to liberate the scent without the release of food pieces and were positioned on the inner top of the trap that was out of reach from the crayfish.

3.3.2 Laboratory and statistical analysis

To avoid contamination by *A. astaci*, all material used to manipulate individuals and samples were carefully washed with sodium hypochlorite for disinfection (BULLER, 2008).

A total of 15 adult reproductive males (RM), 15 adult non-reproductive males (NRM) and 15 adult females (F) were selected from each monthly sampling. Only individuals in intermolt stage and non-gravid females were selected for analysis to reduce physiological and ecological variation associated to molt cycle and reproduction in our analysis. Since two different morphotypes of adult males that alternate between each other are found in this species (1- reproductive males (RM) that can be distinguished by the presence of hooks on the ischia of the 3rd and 4th pereiopods and more calcified copulatory organs, also referred as Type I Males; and 2- non-reproductive males (NRM), recognized by the absence of the hooks, also referred as Type II Males) (TAKETOMI *et al.*, 1990; HENTTONEN; HUNER, 1999; LOUREIRO *et al.*, 2015a), sex differentiation and male form identification followed Sukô (1953), Huner (1981) and Huner and Barr (1991).

3.3.3 Morphometric data

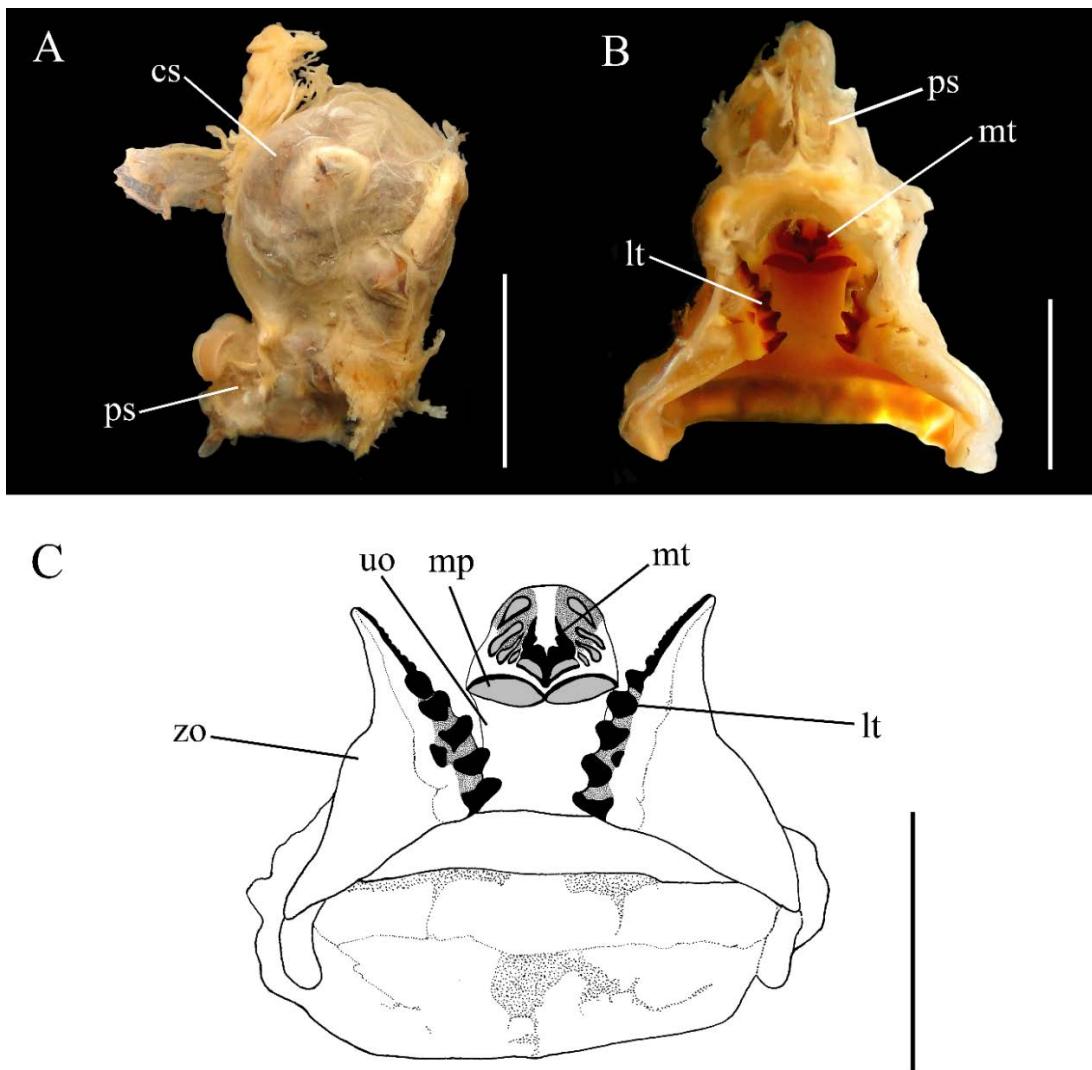
Collected individuals were fixed in 10% formalin and taken to the laboratory. Each specimen was washed to remove the formalin, weighed to the nearest 0.1 g (total body wet weight - TBWW) on a digital balance (Ohaus AR 2140) and measured with a digital caliper from the internal margin of the ocular orbit to the distal margin of the cephalothorax (postorbital carapace length - POCL). Animal length was tested for normality in each

demographic group (RM, NRM and F) and compared with Kruskal-Wallis test. Length-weight relationships were calculated using Pearson regression analysis for RM, NRM and F and compared by analysis of covariance (ANCOVA).

3.3.4 Stomach content preparation

The cardiac and pyloric stomachs (Figure 12A) were excised and weighed. The weight of each stomach was compared to the weight of the respective individual and then we calculated the percentage of weight relative to the stomach of each animal (PEPA). Excised stomachs were promptly classified according to the relative degree of fullness (SDF) according to Collins and Paggi (1997) and visually ranked according to filling proportion: 0 (empty stomach), 1 (0.1-20% full), 2 (20.1-40% full), 3 (40.1-60% full), 4 (60.1- 80% full) and 5 (80.1-100% full) (GRIFFEN *et al.*, 2012).

Figure 12 - Stomach of *Procambarus clarkii*
Figura 12 – Estômago de *Procambarus clarkii*



Fonte: LOUREIRO, T. G. et al. (forthcoming).

Notas: A. Lateral view showing the two portions: the cardiac stomach (cs) and the pyloric stomach (ps). Scale bar: 1 cm. B. Ventral view of the stomach showing the internal gastric mill and its teeth. ps- pyloric stomach, mt- median tooth and lt- lateral teeth. C. Schematic illustration of the gastric mill showing the teeth and ossicles in detail. mp- median plate, uo- urocardiac ossicle and zo- zygocardiac ossicle. B and C scale bar: 5 mm.

3.3.5 Diet composition

In order to compare the consumption of animal and plant material, the stomach contents of each individual were removed, weighed and stained with 0.5-1 mL of 0.03 M Eosin B (CONN, 1961; SANGUANRUANG, 1988). Animal material, tainted in red, was separated from plant material, which does not stain, and weighed individually to measure each

type of material contribution to total stomach content weight. To allow further analysis, 5% formalin was used to discolor the samples.

Contribution of animal/plant matter consumption proportion was compared among demographic groups and seasons by a mixed linear model, with the collection month as a nested random variable within the season. Least significant difference (LSD) was used as post hoc test. Due to biological significance and since there was no significant influence of the months within the seasons in this analysis (Wald-Z 1.89; $p = 0.059$), months within seasons were considered as a non-significant random effect and data were grouped in seasons- i.e. spring (September, October, November), summer (December, January, February), fall (March, April, May) and winter (June, July, August) from this point on.

Stomach contents items were identified to the lowest possible taxonomic level using specific literature. Items identification was performed using a stereoscopic microscope (Nikon SMZ800 and LEICA ZZ4) and a compound microscope (Olympus CX31) when necessary. Diet composition of RM, NRM and F was investigated by calculating the percentage of occurrence (POO), which is the number of occurrences of each item (i) divided by the total of analyzed stomachs (multiplied by 100) (WILLIAMS, 1981; HAEFNER, 1990; SANTOS *et al.*, 2008) and indicates how often each item was observed in *P. clarkii*'s stomachs. This approach provides information regarding presence, absence and the frequency of items in stomachs but doesn't inform in what quantities items are present. No quantitative or volumetric assessment was performed in this study since those methods may distort the results. This may occur because of different chemical composition and digestibility of each consumed item (ARAUJÓ *et al.*, 2009).

3.3.6 Diet diversity and dissimilarity

Diversity of diet composition and the degree of specialization were assessed based on Shannon-Wiener diversity index of different groups in each season following Magurran (1988). Difference in composition among demographic groups and seasons was verified by Analysis of Similarity (ANOSIM) while the items responsible for dissimilarity among demographic groups were identified by Similarity percentage Analysis (SIMPER), both using Bray-Curtis dissimilarity (CLARKE, 1993). For this, the number of individuals within the demographic groups and/or seasons with the respective item in the stomach was used as abundance data. Therefore, the results from these analyses reflect the number of animals that

consumed that particular item rather than the amount of that item consumed by each animal. ANOSIM and SIMPER was also obtained to see differences among demographic groups in each season individually. K-mean cluster analysis was also used to separate demographic groups of each season into 4 groups in order to help interpretation of the other diet composition analysis.

3.3.7 Statistical analysis

Prior to analysis, variances of all data were checked for normality and homogeneity. Data were compared among seasons and/or among demographic groups (RM, NRM and F) using Welch correction when normal data presented non-homogeneous variances and equivalent non-parametric test when data was not normally distributed. Univariate statistical analyses were executed using SPSS software (version 22, IBM) and multivariate analysis (diet composition) were conducted on PAST 3.20 software (HAMMER *et al.*, 2001).

3.4 Results and discussion

3.4.1 Morphometry

In total, 540 animals (180 RM, 180 NRM and 180 F) were measured, weighed, and had their stomach content analyzed. The mean POCL and TBWW were 30.72 mm and 14.86 g for RM, 23.50 mm and 13.06 g for NRM and 26.75 mm and 14.59 g for F (Figure 13A, B). Measurement data were normally distributed and with low skewness for RM (0.01) and NRM (0.06) but not for F (-0.47). The low frequency of large females captured in this study (right-skewed histogram) may be explained by their sheltering behavior during breeding and offspring care, which is also the reason why only few females with eggs or juveniles in the abdomen were captured (GHERARDI, 2002; LOUREIRO *et al.*, 2015a).

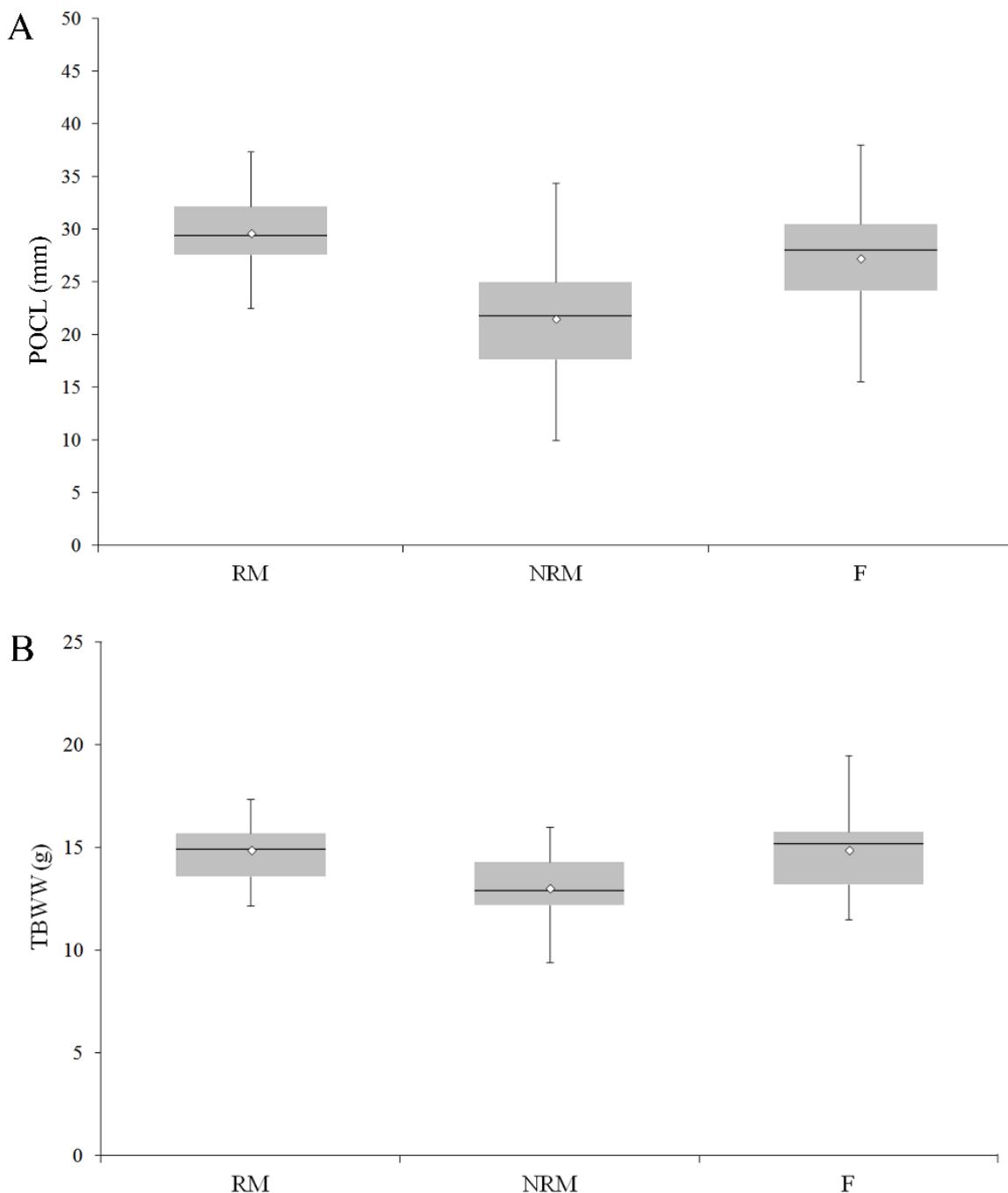
The size of the individuals evaluated in this study was unexpectedly smaller than mentioned in the literature (GUTIÉRREZ-YURRITA; MONTES, 1998; DÖRR *et al.*, 2006; CHUCHOLL, 2011). Huner and Romaire (1978) associated body size and environmental quality based on the observation that *P. clarkii*'s populations from degraded environments tended to have smaller individuals. Dörr *et al.* (2006) suggested that individuals reach higher body lengths in colder environments and smaller sizes are expected in warmer ecosystems. The low values of POCL and TBWW found in this study might be a combination of both hypothesis. First, the lake receives water from a polluted river that drains a huge urban area, despite being inside a conservation area (Figure 11). Secondly, the Park is located in a tropical region of Brazil, with an annual average temperature of 20 °C and annual precipitation of 1500 mm–1600 mm (ROQUE *et al.*, 2003) while most of invasive populations studied are from colder temperate areas in Europe.

Another important aspect to consider is the phenomenon of sexual precocity in this species, which is associated with the occurrence of individuals with small sizes, lower growth rates and decreasing survival due to genetic and environmental factors (TAN *et al.*, 2017). Actually, the weight and sizes of individuals from JSP are within the same size intervals of individuals classified as precocious by Tan *et al.* (2017).

The length and weight relationship of animals presented a significant positive association within each demographic group (RM: $F = 591.8$, $p < 0.001$, $R^2 = 0.77$; NRM: $F = 1791.5$, $p < 0.001$, $R^2 = 0.91$; F: $F = 968.3$, $p < 0.001$, $R^2 = 0.85$) and in the samples as a whole ($F = 2611.5$, $p < 0.001$, $R^2 = 0.83$) (Figure 14). The length-weight regressions for RM, NRM and F did not differ ($p > 0.05$). This result was unexpected since

difference in weight increment with size on crayfish is usually related to sex, sexual stage, and/or ecological conditions (LINDQVIST; LAHTI, 1983; MAZLUM *et al.*, 2007, WANG *et al.*, 2011). Despite the lack of difference in on the slope, there was a significant difference of POCL ($H = 117.39$, $p < 0.001$) among demographic groups ($p < 0.001$) (Figure 13A).

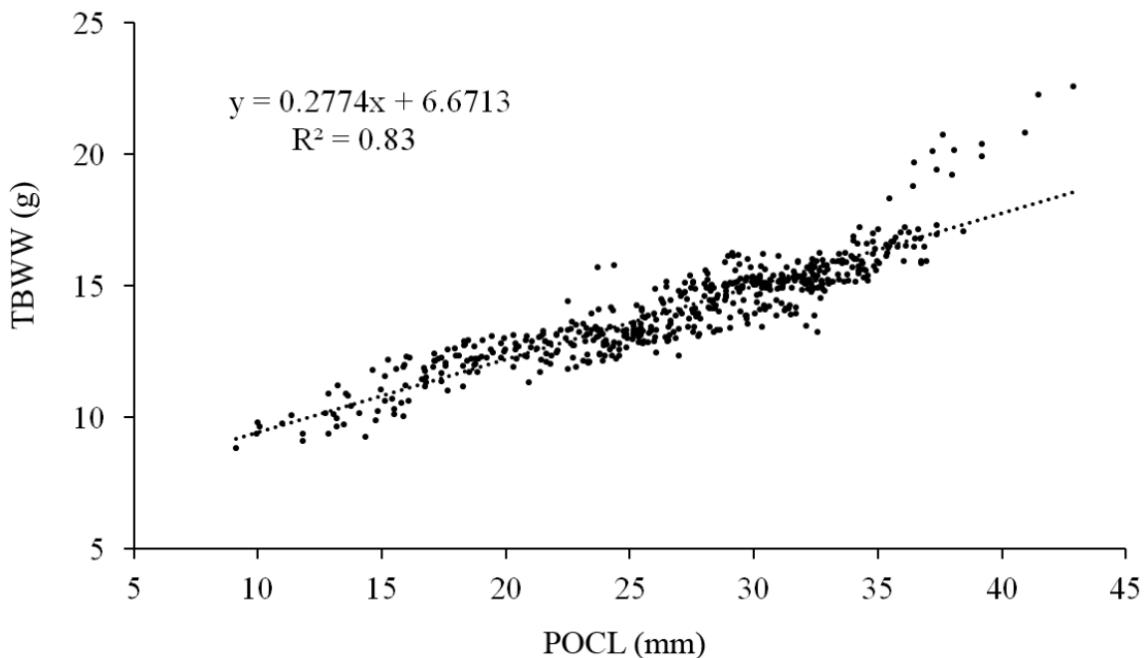
Figure 13 - Morphometric data of *Procambarus clarkii*
Figura 13 – Dados morfométricos de *Procambarus clarkii*



Fonte: LOUREIRO, T. G. *et al.* (*forthcoming*).

Notas: **A.** Box plot describing the size POCL of RM, NRM and F. **B.** Box plot describing the weight (TBWW - total body wet weight) of reproductive males (RM), non-reproductive males (NRM) and females (F).

Figure 14 - *Procambarus clarkii* length–weight relationship
Figura 14 – Relação comprimento-peso



Fonte: LOUREIRO, T. G. et al. (*forthcoming*).

Notas: Length–weight regression for *Procambarus clarkii* in Southeast Brazil, regression equation and coefficient of determination (R-squared). POCL- postorbital carapace length, TBWW- total body wet weight.

3.4.2 Stomach content (SDF and PEPA)

The majority of animals presented full stomach. Most individuals (55%) presented high relative degree of fullness (categories 4 and 5) in all groups and seasons. Indeed, no empty stomach (SDF category 0) was observed throughout the entire study (Table 4). Very few were classified as categories 1 and 2. Stomachs in the category 1 were present only during spring in all demographic groups and category 2 stomachs occurred in low frequencies but in all seasons and groups (Figure 15). Indeed, despite the prevalence of high SDF categories the entire year, stomachs were proportionally less full in colder weathers (Figure 16). More full stomachs in summer and spring agrees with the hypothesis from Seals *et al.* (1997) who demonstrated that crayfish may eat more in higher temperatures.

The SDF did not differ significantly among seasons but differed among demographic groups (Figure 17). When comparing all seasons together, NRM presented significantly less full stomachs ($H = 20.65$; $p < 0.001$) than both RM ($p = 0.004$) and F ($p < 0.001$). When

analyzing each season individually, winter presented the same pattern ($H = 6.63$; $p = 0.036$) of NRM against both RM ($p = 0.023$) and F ($p = 0.029$), although the adjusted p values were not significant ($p = 0.068$ and $p = 0.087$, respectively). In summer, such difference ($H = 10.98$; $p = 0.004$) was only observed between NRM and F ($p = 0.003$). No significant difference was observed among demographic groups during fall ($H = 4.80$; $p = 0.091$) or spring ($H = 2.06$; $p = 0.36$). The SDF category with highest frequency of occurrence was category 4 for RM and NRM and 5 for F, with slight variation among seasons (Figure 15, Figure 17). The higher prevalence of full stomachs in females (Figure 16) is probably due to the high requirement of nutritional resources associated with reproduction, which includes egg investment production, maintenance of brooded egg and juveniles and the long period of starvation during the brood care in burrows (CANNICCI *et al.*, 1996)

The PEPA values didn't present significant variation among seasons or demographic groups (Table 5). Nonetheless, NRM had marginally significant lower PEPA values in all seasons, except winter (Table 5).

Both PEPA and SDF analyses indicated that there is no strong seasonal influence on individual's quantitative ingestion and stomachs are surprisingly full the entire year (Figure 17). At JSP, *P. clarkii* has a continuous availability and consumption of resources and there is no season in which the population faces important foraging challenges.

Table 4 - Percentage of individuals in each SDF category
Tabela 4- Porcentagem de indivíduos em cada categoria de SDF

SDF	Spring			Summer			Fall			Winter		
	RM (%)	NRM (%)	F (%)	RM (%)	NRM (%)	F (%)	RM (%)	NRM (%)	F (%)	RM (%)	NRM (%)	F (%)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	4.4	2.2	2.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	8.9	11.1	13.3	4.4	6.7	2.2	0	6.7	6.7	11.1	11.1	4.4
3	17.8	22.2	17.8	17.8	31.1	13.3	26.7	31.1	15.6	31.1	31.1	22.2
4	26.7	40	20	46.7	42.2	33.3	46.7	44.4	40	33.3	33.3	28.9
5	42.2	24.4	46.7	31.1	20	51.1	26.7	17.8	37.8	24.4	24.4	44.4

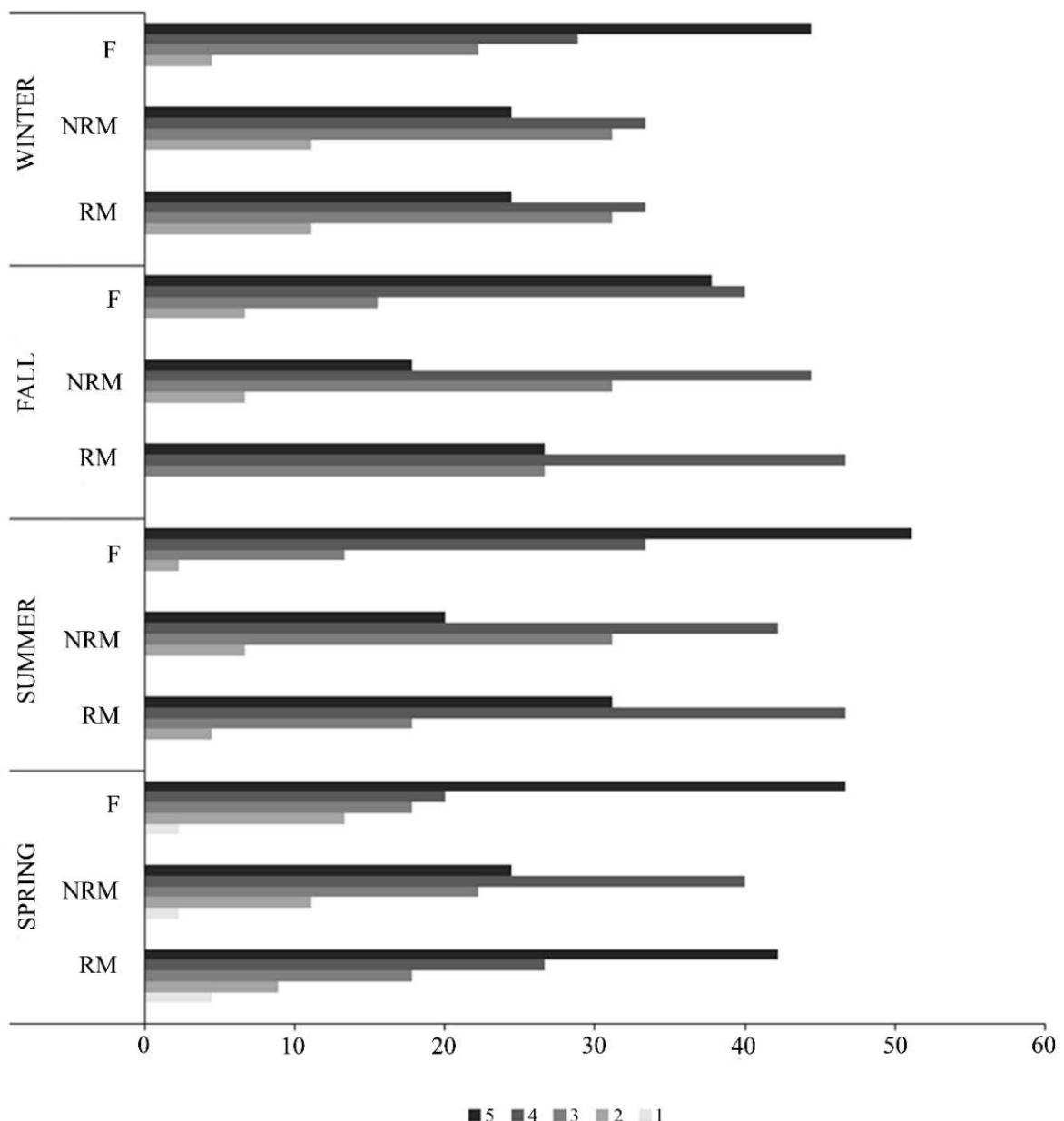
Notas: Data are separated by demographic group (RM, NRM and F) and season. SDF categories are according to the stomach filling proportion: 0-empty stomach, 1- 0.1 to 20%, 2- 20.1 to 40%, 3- 40.1 to 60%, 4- 60.1 to 80% and 5- 80.1-100%. RM- reproductive male, NRM- non-reproductive male and F- female

Table 5 - PEPA for different demographic groups
Tabela 5 - PEPA por grupo demográfico

Spring			Summer			Fall			Winter			
	RM (%)	NRM (%)	F (%)	RM (%)	NRM (%)	F (%)	RM (%)	NRM (%)	F (%)	RM (%)	NRM (%)	F (%)
Mean	5.2	4.8	5.1	5.2	4.9	5.1	5	4.8	5.1	5.1	4.7	4.9
STD	0.5	0.5	0.5	0.6	0.4	0.5	0.4	0.3	0.5	0.4	0.5	0.5
Máx	7	5.5	5.9	5.9	5.8	6	6	5.6	6.1	6	6	5.9
Min	3.8	3.3	3.6	3.2	4.2	4	4.3	4	4	4.3	3.7	3.9

Notas: Values are mean, standard deviation (STD), maximum (Max) and minimum (Min) PEPA separated by demographic group (RM, NRM and F) and season. RM- reproductive male, NRM- non-reproductive male and F- female.

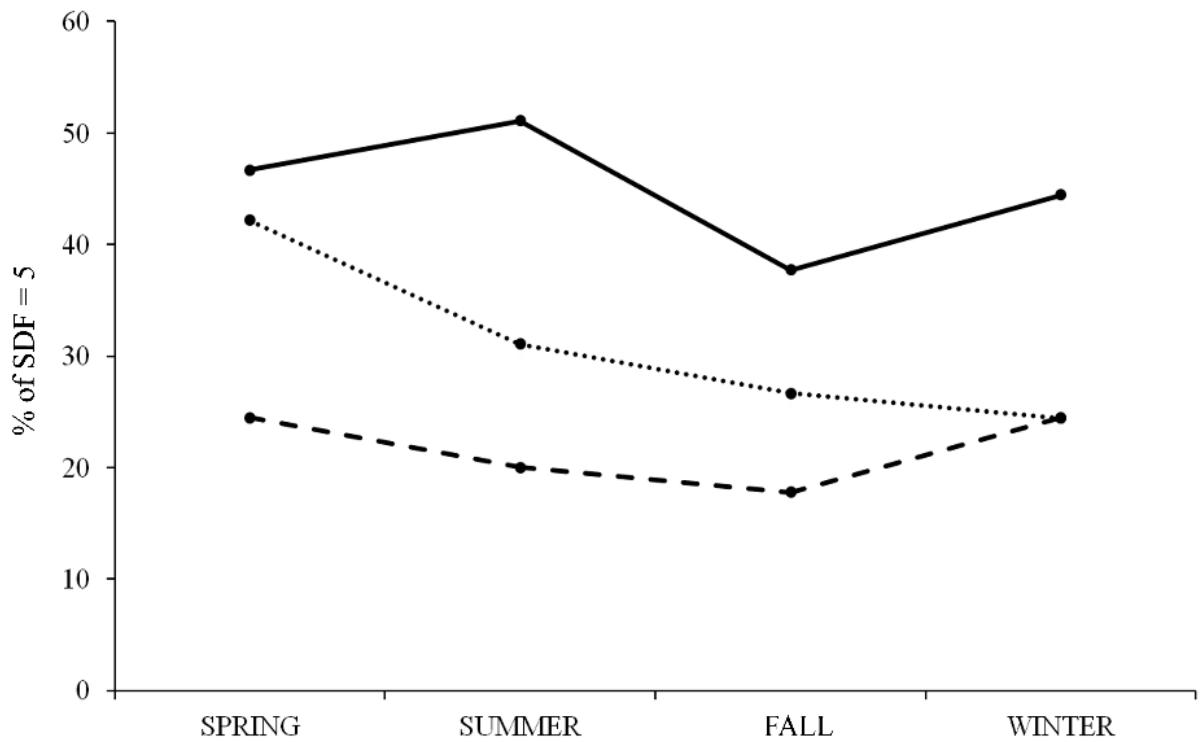
Figure 15 - Number of *Procambarus clarkii* individuals in each (SDF) category
Figura 15 – Número de indivíduos em cada categoria de SDF



Fonte: LOUREIRO, T. G. et al. (*forthcoming*).

Notas: Histogram of the number of *Procambarus clarkii* individuals in each SDF category (0- empty to 5-full) in Southeast Brazil. Data are grouped by season and separated among demographic groups (F, NRM and RM).

Figure 16 - Percentage of *Procambarus clarkii* individuals with full stomachs per season
Figura 16 – Porcentagem de indivíduos com estômago cheio sazonalmente



Fonte: LOUREIRO, T. G. *et al. (forthcoming)*.

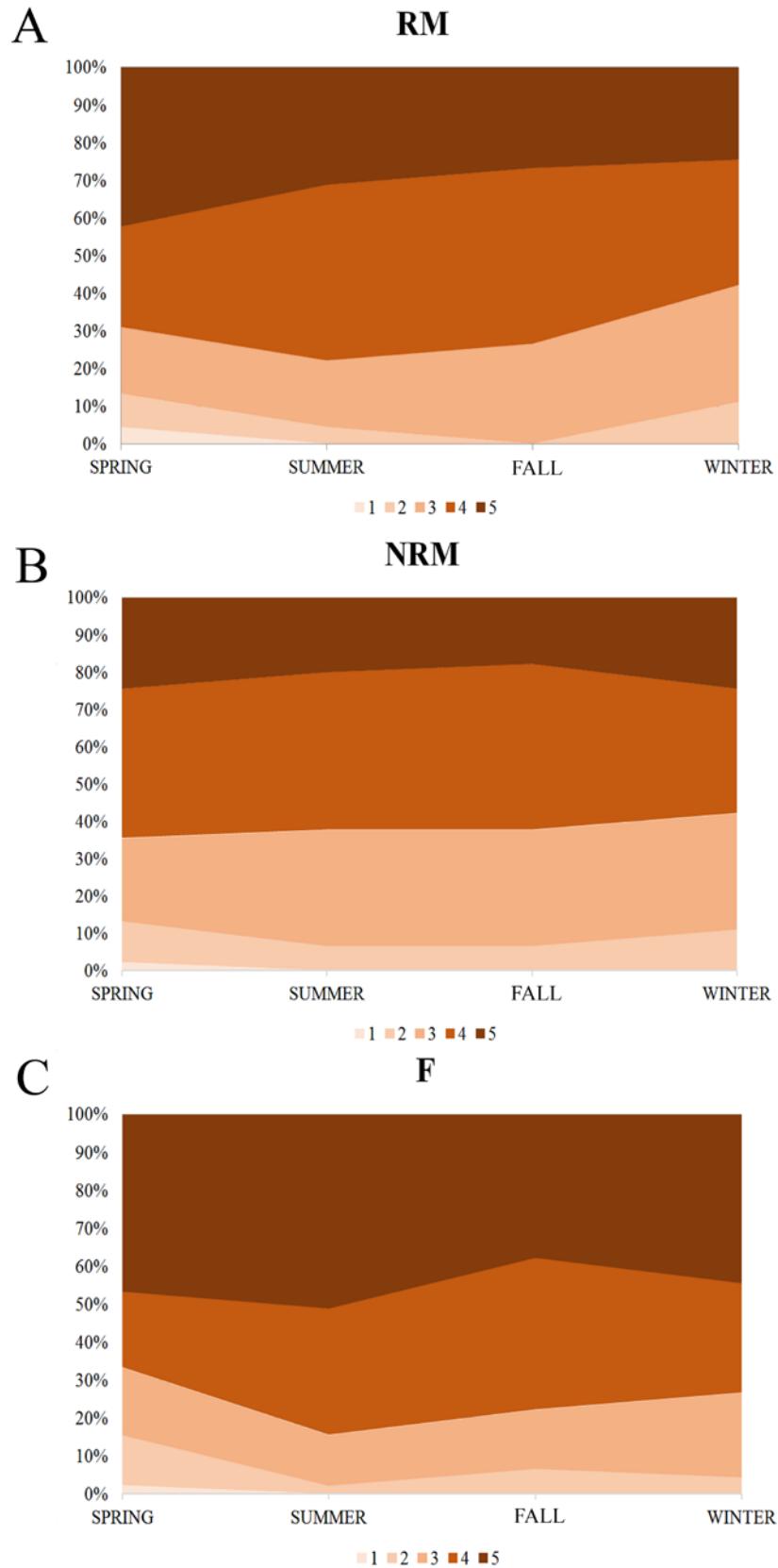
Notas: Full stomachs mean SDF in the category 5.

F - Continuous line;

RM - Dotted line;

NRM - Dashed line.

Figure 17 - SDF of *Procambarus clarkii* throughout the year
Figura 17 – SDF de *Procambarus clarkii* ao longo do ano

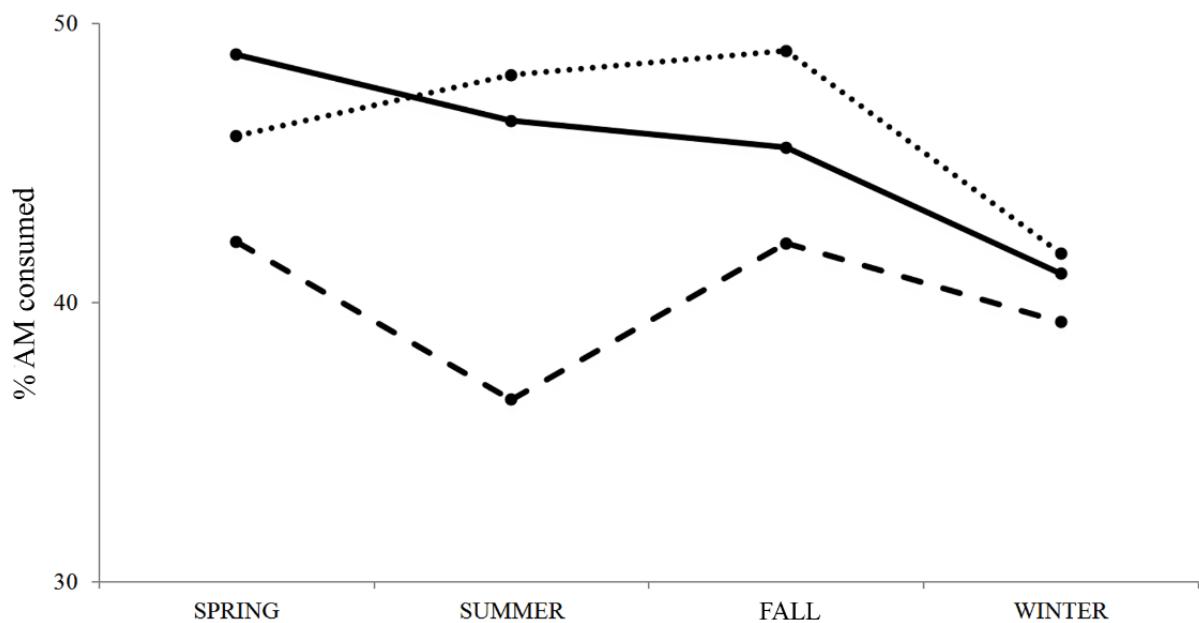


Notas: **A.** Reproductive males (RM). **B.** Non-reproductive males (NRM). **C.** Females (F).

3.4.3 Diet composition and omnivorous feeding habits

All animals presented both animal and plant matter in their stomachs. We observed a significant effect of the demographic group ($F_{1,525} = 22.84$, $p < 0.001$) but not of the season ($F_{3,8} = 0.431$, $p = 0.737$) on the consumed proportion. Since the usage of plant and animal sources was around 50% for RM and F (Figure 18) with no seasonal variation, the degree of herbivory and carnivory seems to be balanced throughout the year, corroborating the classification of *P. clarkii* as an omnivorous species (CHUCHOLL, 2013; CARVALHO *et al.*, 2016). Regarding demographic groups, NRM consumed significantly lower amounts of animal matter than both RM ($p < 0.001$) and F ($p < 0.001$) in all seasons but in winter, when lower consumption of animal material was observed in all demographic groups. NRM had around 40% of animal material in their stomachs in all seasons, being this lowest rate of animal ingestion in spring (36%) (Figure 18).

Figure 18 - Proportion of animal matter (AM) consumed in each season
Figura 18 – Proporção de matéria animal (AM) consumida sazonalmente



Fonte: LOUREIRO, T. G. *et al.* (*forthcoming*).

Notas: **F** - continuous line; **RM** - dotted line; **NRM**- dashed line.

The first studies regarding *P. clarkii*'s foraging habits in their native range classified this species as predominantly herbivorous (PENN, 1943; AVAULT, 1983). In fact, crayfish in general has been considered mainly herbivores and detritivores for a long time (WEBSTER

and PATTEN, 1979; HURYN; WALLACE, 1987). This feeding classification started to change with other studies that pointed out the great contribution of animal matter as energy source (HOBBS, 1993; MOMOT, 1995; GUTIÉRREZ-YURRITA *et al.*, 1998).

Great discussion still remains regarding crayfish feeding habits but most authors sustain the preference for animal food sources (CAPELLI, 1977; ILHÉU; BERNARDO, 1995), switching to herbivory or detritivory when predation efficiency is low. Few authors argue that the shifting from carnivory in juveniles to herbivory in adults is ontogenetically derived. (OLSEN *et al.*, 1991; ILHÉU; BERNARDO, 1995; CORREIA; ANASTÁCIO, 2008).

Some studies indicate that crayfish needs a daily protein intake of about 25 to 35% of the total ingested amount and that animals under a high-protein diet grow faster (D'ABRAMO; ROBINSON, 1989; LOCHMAN *et al.*, 1992). The population at JSP eats more than the aforementioned necessary rates, even though animals from this population were smaller than from other invasive populations of this species (GUTIÉRREZ-YURRITA; MONTES, 1999; DÖRR *et al.*, 2006; CHUCHOLL, 2011).

Clearly, there are some dietary requirements for protein, carbohydrate, lipids, sterols, fatty acids, phosphoglycerates, carotenoids and others, but we believe that, in the case of *P. clarkii*, most attention should be paid on the term opportunistic, which will reflect different feeding habits on different types of environments.

3.4.4 Diet diversity, composition and generalist feeding habits

Shannon-Wiener diversity index of diet composition varied from 2.3 to 2.6 (Table 6). Although values don't differ much, they are lower for the NRM in all seasons, except winter that is also when the lowest index variation among demographic groups was observed. This indicates that all demographic groups present an assorted diet in all seasons, supporting the generalist feeding habits. Though always diverse, the specific food composition can vary among demographic groups or seasons.

Table 6 - Shannon-Winner diversity index of food item composition
Tabela 6 – Índice de diversidade de Shannon-Winner da composição da dieta

	Group		
	RM	NRM	F
Spring	2.51	2.44	2.56
Summer	2.61	2.32	2.55
Fall	2.60	2.46	2.50
Winter	2.54	2.46	2.44

Materials identified in the stomachs of *P. clarkii* were categorized as detritus, sediment grains, animal matter and plant matter, with all categories occurring in all demographic groups and seasons (Table 7, Figure 19). Detritus was found in more than 50 % of stomachs in all seasons and demographic groups. This notable percentage of occurrence is probably related to semi-digested and unrecognizable items that were also classified as detritus. As it is impossible to separate the latter from the ingestion of decaying matter, this food item was excluded from the diet composition analysis.

The frequency of occurrence of sediment grains was lower in spring for all demographic groups and also in summer for RM (Figure 20, Figure 21). Higher prevalence of sediment grains in stomach was expected in summer since higher temperatures tend to increase burrowing activity (ILHÉU *et al.*, 2003; GHERARDI, 2006), but instead were observed in fall and winter in this study. Although sediment can be ingested unintentionally, adhered to macrophytes or prey, the high percentage of occurrence (Table 7) indicates intentional sediment consumption. This subtract contains a great diversity of associated microfauna, e.g. Ostracoda and Oligochaeta, which are consumed by macrocrustaceans (WEAR; HADDON, 1987; BRANCO; VERANI, 1997). Thus, associated fauna are consumed with the ingestion of substrate. Besides, sediment grains might be deliberately ingested to enhance food maceration and digestion efficiency in the gastric mill (Figure 12B, C) (SUTHERS, 1984; LIMA *et al.*, 2016).

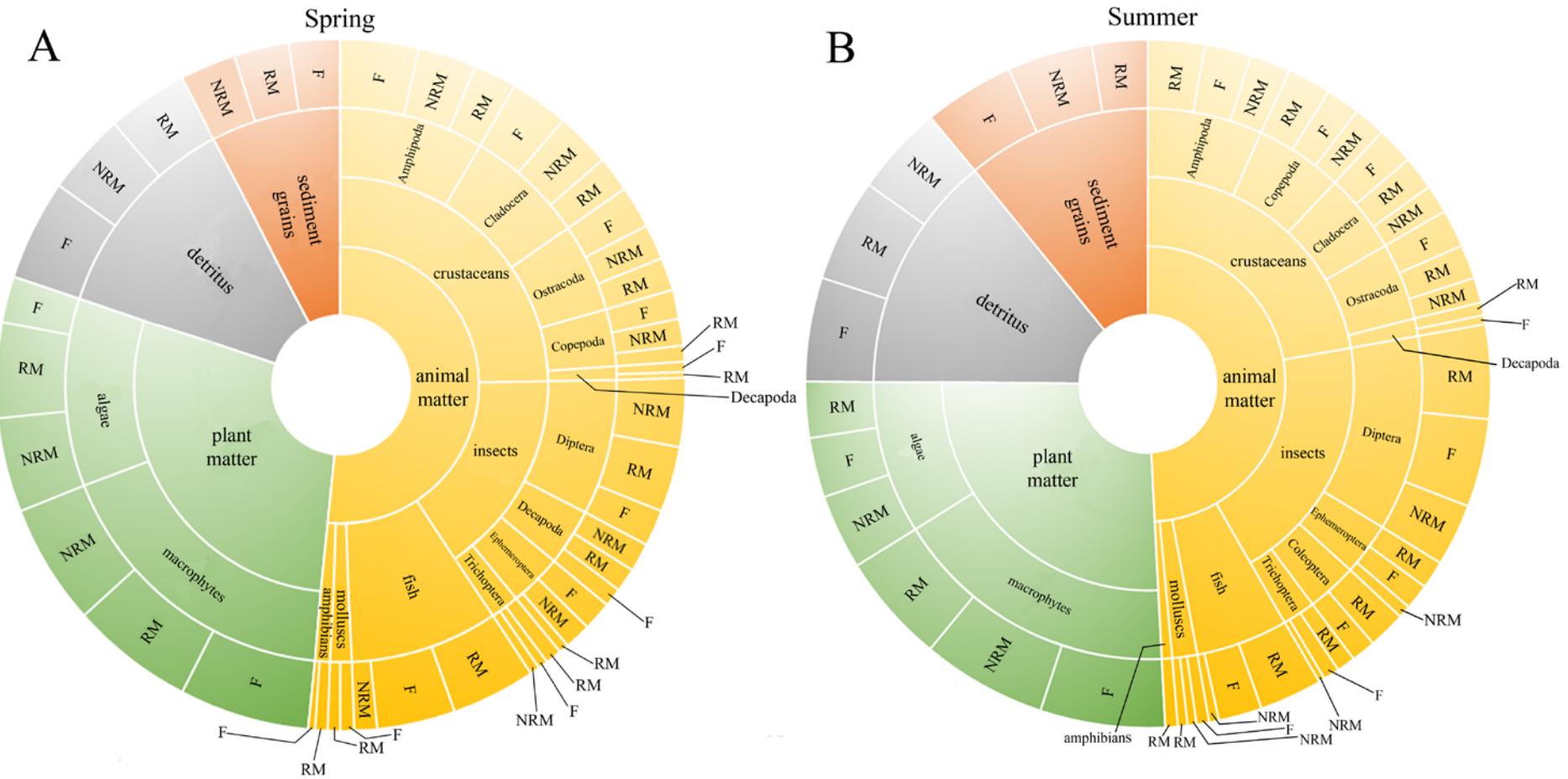
Plant matter was classified in two groups, algae and macrophyte. The latter being the predominant source of plant material for all demographic groups and seasons (POO > 75%, Table 7 Figure 19, Figure 20, Figure 21). The frequency of algae in stomachs was smaller in

summer and winter for all demographic groups (Figure 21) and also for F in spring (Figure 20). The lower intake of algae during winter must be related to lower abundance and availability of this item, which are positively related to water temperature and light incidence (ZAGATTO *et al.*, 1994). Lower POO of algae in summer and spring might be due to great offer of other food items. Algae used to be undervalued in macroinvertebrates diet although some are nowadays considered as high-quality food sources due to their high concentrations of polyunsaturated fatty acids (PUFA) (BRETT; MÜLLER-NAVARRA, 1997). These fatty acids are able to support reproduction and high growth rates of consumers, as demonstrated by Müller-Navarra *et al.* (2000), justifying the high POO of algae in stomachs.

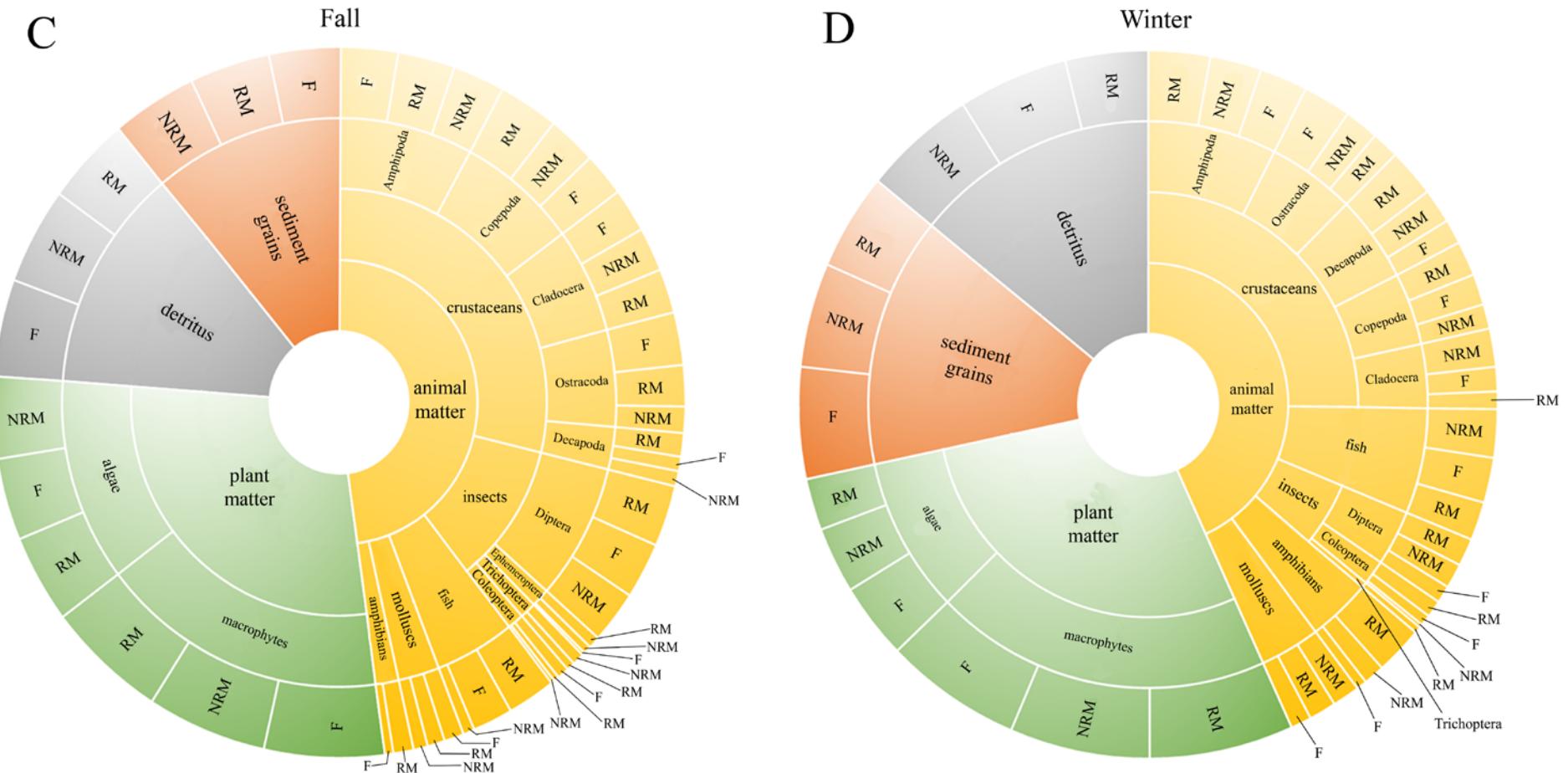
Table 7 - POO of the food items identified in stomach separated by season and demographic group
Tabela 7 - POO dos itens alimentares observados por grupo demográfico e sazonalmente

			Spring	Summer	Fall	Winter
Plant matter	Detritus	RM (%)	56	73	67	53
		NRM (%)	56	64	73	73
		F (%)	69	73	73	71
Plant matter	Sediment grains	RM (%)	38	40	62	62
		NRM (%)	38	60	67	67
		F (%)	36	64	56	71
Insecta	Algae	RM (%)	64	40	67	33
		NRM (%)	64	53	62	42
		F (%)	31	42	62	49
	Macrophytes	RM (%)	84	78	93	93
		NRM (%)	82	89	93	91
		F (%)	89	89	93	89
Animal Matter	Diptera	RM (%)	44	67	47	18
		NRM (%)	47	44	40	16
		F (%)	24	62	42	11
	Ephemeroptera	RM (%)	7	20	9	0
		NRM (%)	18	9	7	0
		F (%)	20	18	2	0
	Coleoptera	RM (%)	16	27	9	11
		NRM (%)	20	0	4	2
		F (%)	13	18	2	7
	Trichoptera	RM (%)	11	13	7	4
		NRM (%)	7	4	9	0
		F (%)	13	18	2	7
Crustacea	Ostracoda	RM (%)	22	24	31	18
		NRM (%)	24	18	20	22
		F (%)	29	27	40	31
	Cladocera	RM (%)	24	24	33	11
		NRM (%)	38	20	33	24
		F (%)	40	27	33	16
	Amphipoda	RM (%)	29	40	44	40
		NRM (%)	40	29	40	33
		F (%)	53	33	44	31
	Copepoda	RM (%)	11	31	47	22
		NRM (%)	18	22	38	16
		F (%)	20	24	33	20
Decapoda	Decapoda	RM (%)	4	9	18	31
		NRM (%)	0	0	11	22
		F (%)	7	7	11	16
	Mollusca	RM (%)	9	7	13	18
		NRM (%)	0	7	11	18
Amphibia	Amphibia	F (%)	9	9	16	31
		NRM (%)	0	0	0	13
		F (%)	4	0	7	7
	Fish	RM (%)	58	44	38	24
		NRM (%)	16	7	9	31
		F (%)	53	31	31	29

Figure 19 - Diet composition of *Procambarus clarkii* in Southeast Brazil
Figura 19 – Composição da dieta

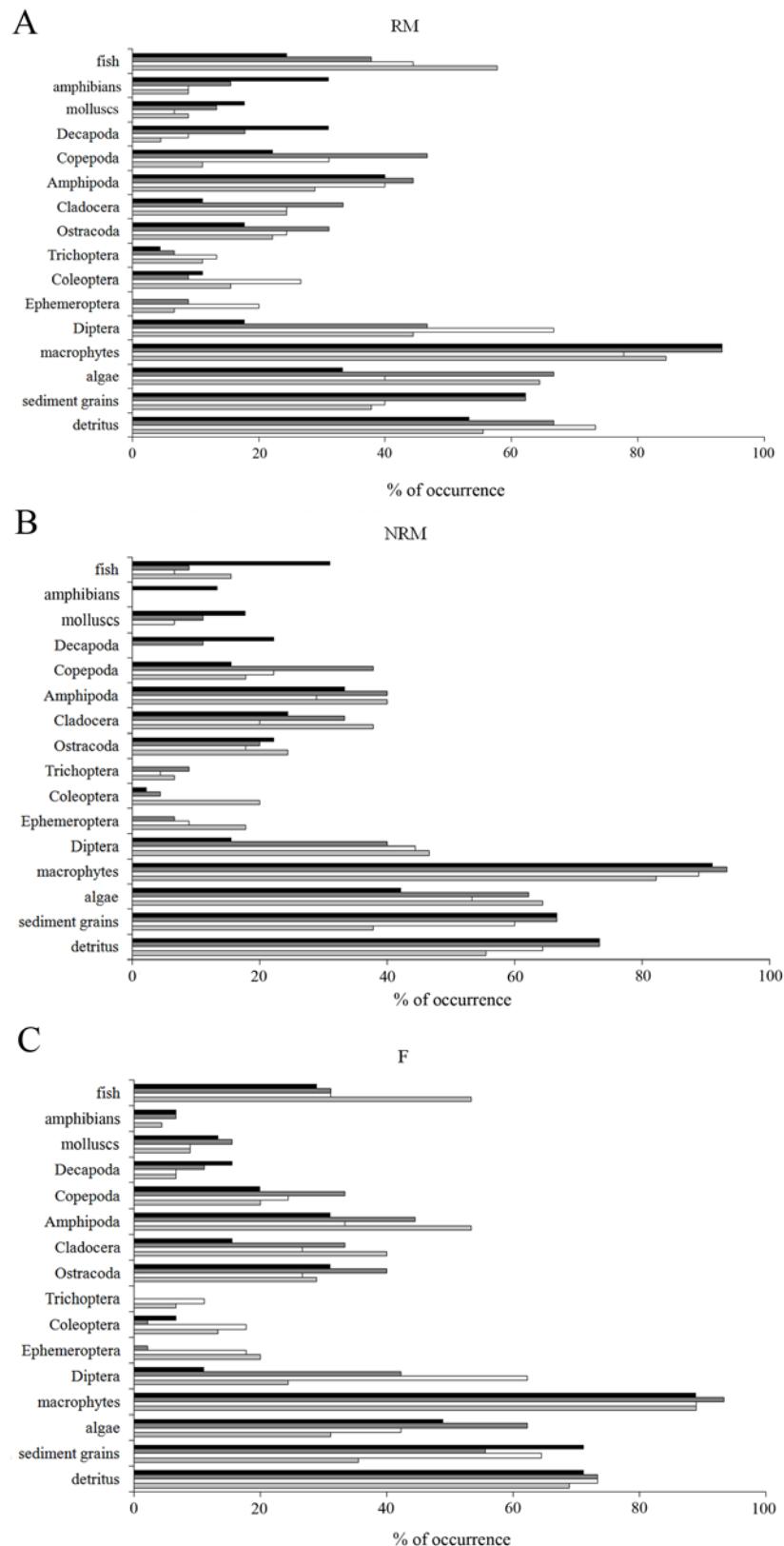


Notas: The area of each item is related to the percentage of occurrence in sampled stomachs of **RM**, **NRM** and **F**. **A.** Spring. **B.** Summer. **C.** Fall. **D.** Winter



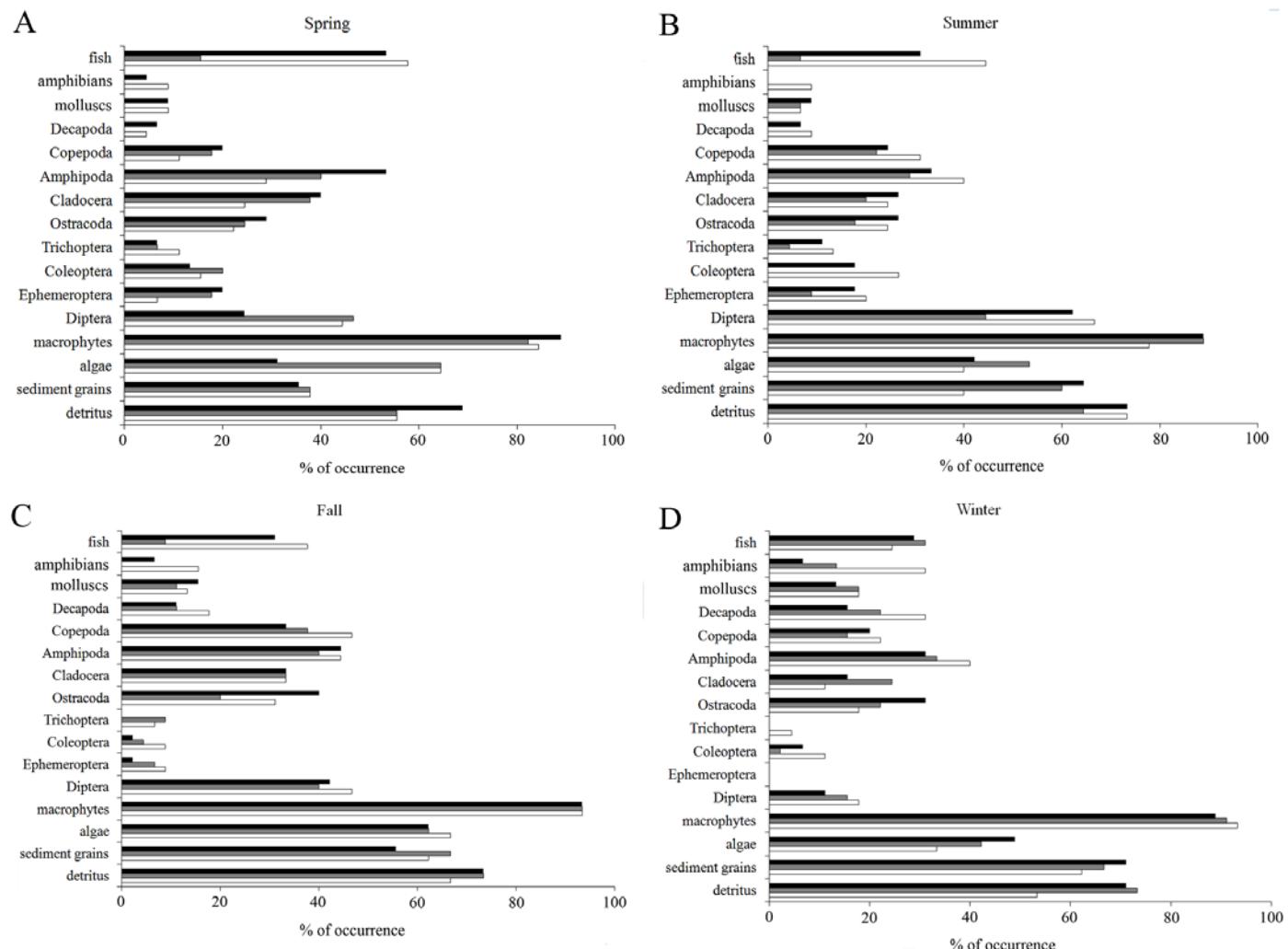
Notas: The area of each item is related to the percentage of occurrence in sampled stomachs of **RM**, **NRM** and **F**. **A.** Spring. **B.** Summer. **C.** Fall. **D.** Winter

Figure 20 – POO of food items in stomachs of *Procambarus clarkii* per season
Figura 20 – Porcentagem de ocorrência dos itens alimentares sazonalmente



Notas: Spring (light gray), summer (white), fall (dark gray) and winter (black). **A.** Reproductive males. **B.** Non-reproductive males. **C.** Females.

Figure 21 - POO of food items in stomachs of *Procambarus clarkii* per demographic group
Figura 21 - Porcentagem de ocorrência dos itens alimentares por grupo demográfico



Notas: Reproductive males (white), non-reproductive males (gray) and females (black). **A.** Spring. **B.** Summer. **C.** Fall. **D.** Winter.

It is important to consider that despite the lower nutritional importance of plant material associated with their higher carbohydrate and lower protein content, algae and macrophytes also act as microfauna substrate (e.g. microinvertebrates and periphyton) and their joint consumption enhances the overall nutritional values of these plant sources (GODDARD, 1988; MOMOT, 1995).

Animal matter assembled insects larvae (Diptera, Ephemeroptera, Coleoptera and Trichoptera), crustaceans (Ostracoda, Cladocera, Amphipoda, Copepoda and Decapoda), molluscs, amphibians and fish (Figure 22).

Figure 22 - Fish remains found in *Procambarus clarkii* stomach
Figura 22 – Pedaço de peixe encontrado em um estômago



Fonte: Acervo pessoal da autora.

Insects were consumed with higher frequencies in spring and summer by all demographic groups (Figure 19, Figure 20, Figure 21). As expected due to insects' reproduction and dynamics (DIJKSTRA *et al.*, 2014), the lower ingestion rates were in winter (Table 7, Figure 21). Diptera was the most representative insect food item, presenting the highest POO among insects in all seasons, with lower values in winter (Figure 21). Coleopterans were more consumed in summer and mostly by RM and F (Figure 20). The

POO of Ephemeroptera and Trichoptera larvae in stomachs was low, especially in winter (Figure 21). Usually, the presence of these immature insects is positively associated to the quality of water bodies and concentration of dissolved oxygen (COSTA *et al.*, 2006) which doesn't seem to be the case in the lake and associated river at JSP. Therefore, despite low frequencies of occurrence (Table 7), we did not expect these insects in *P. clarkii*'s stomachs.

The most frequent crustaceans in the analyzed stomachs were microcrustaceans (Ostracoda, Cladocera and Copepoda). These 3 groups occurred in 11 to 35% of inspected stomachs, with higher frequencies during fall, same season with higher POO of macrophytes (Figure 19, Figure 21). This further suggests that they were likely ingested along with the macrophytes in an indirect and non-selective matter. Amphipods were also an important food source, found in 29 to 53% of stomachs with lower frequencies in spring and summer (Figure 19, Figure 20); these mesocrustaceans with high mobility are an evasive prey and might be eaten intentionally.

Zooplanktonic crustaceans in tropical lakes show seasonal fluctuations, although less pronounced than in temperate regions. They are less related to variations in water temperature and more influenced by wind, water level, precipitation and eutrophication (NILSEN, 1984; BOZELLI, 1994; PINTO COELHO, 1998). In this study, the lower POO of all microcrustaceans in winter, indicates the effect of seasonality in population abundance of these groups and, consequently, their availability as food source.

Larger crustaceans classified as decapods were juvenile aeglids (Aeglidae), freshwater crabs from the family Trichodactylidae as well as some juveniles of *P. clarkii*, indicating the occurrence of cannibalism in this population. Cannibalism is well documented in populations of The Red Swamp Crayfish, occurring in up to 20% of adult individuals (GUTIÉRREZ-YURRITA *et al.*, 1998). However, the incidence of this behavior is usually associated with high densities and insufficient food resources (O'NEILL *et al.*, 1995; WANG *et al.* 2014). Nevertheless, the high frequency of full stomachs (Section 3.4.2) does not indicate resource scarcity. Since the juveniles of the Red Swamp Crayfish are usually found among macrophytes, it is also possible that their ingestion was accidental or due to convenience. The POO of decapods in stomachs was lower than the other crustaceans ingested in all seasons but winter, when their use as food resource more than double (Table 7, Figure 21). No NRM had decapod crustaceans in their stomachs in spring and summer (Figure 20). They just accessed this food items in fall and winter when their consumption on this item reaches the POO values from RM and F, probably because other non-evasive preys were less available (Table 7).

Molluscs were mainly bivalve species and a few gastropods. The contribution of molluscs to diet might have been underestimated since their soft body is easily digested and therefore more difficult to identify, so part of those are probably grouped under the category detritus. Despite less frequent in stomachs than other animal food items, their POO are higher in fall and winter and, as the POO of decapod crustaceans, the increase in their consumption might be a response to the decrease in other food items abundance (Figure 19, Figure 21).

Amphibians identified in stomachs of *P. clarkii* at the JSP were mainly tadpole body parts but the red swamp crayfish can feed on adult anurans as well (BANCI *et al.*, 2013). RM and F preyed on amphibians in all seasons, but the POO of these preys was relatively low when compared to other food items and the highest occurrence in stomachs was in winter, the same month when NRM also accessed this food resource. In the other seasons, there were no amphibians in the stomachs except from NRM (Table 7, Figure 20).

Fish consumption was identified by the presence of eggs, scales and bones (Figure 22) and was especially high among RM and F during spring and summer. The access of this food item by NRM is lower and more expressive in winter, when the POO of fish in RM's and F's stomachs decreases (Figure 20, Figure 21). The lower competition for fish by these two reproductive groups might favor the increase of NRM predation on them. The presence of fish eggs was limited probably due to the faster digestion of this item when compared to scales and bones.

Alcorlo *et al.* (2004) observed a marked seasonal pattern in *P. clarkii* with a significantly higher consumption of animal prey in spring than in winter and a positive selection of insect larvae (mayflies and chironomids), snails and microcrustaceans (except ostracods). We have obtained similar results regarding animal item composition in different seasons, although registered food sources for *P. clarkii* such as oligochaetes were not found in this study, probably due to the difficulty of detecting soft skin animals in stomach contents.

Both, the proportion of animal and plant matters (Section 3.4.3) and POO of food items in stomachs (Section 3.4.4) observed in this study indicated that *P. clarkii* feeds both on animal and plant sources in equivalent frequencies at JSP, being macrophytes the main source of plant items and crustaceans the most frequent animal item ingested. However, the diverse diet composition allows the classification of *P. clarkii* as a generalist species whose foraging habits can change among demographic groups or seasons depending on the availability of resources.

Encounter rates are one of the most important determinants of crayfish predator selectivity (NYSTRÖM, 2002) and it is positively related to prey abundance. The seasonal

variations in diet can be related to differences on availability of resources (animal or plants) and when a specific item become scarce, consumers with a versatile diet can shift to a distinct and more abundant food item. This phenomenon becomes especially clear when focusing in the seasonal POO of specific food items in JSP; insects and microcrustaceans, for example, were consumed by *P. clarkii* in higher frequencies during spring and summer and a great decrease in consumption is observed in fall and winter (Table 7). Along with the decrease in the consumption of these items (as animal source for nutrition), we observed an increase on decapod, mollusc and amphibian ingestion (Table 7) indicating a compensation of animal matter intake.

Additionally, abundance of prey doesn't seem to be the only aspect guiding prey selection; the switch from less evasive prey (insects and microcrustaceans) in spring and summer to more evasive prey (decapods and amphibians) in fall and winter might be due to the decrease on easily captured items. Thus, the POO variation of each item can reflect the cost of prey capture.

3.4.5 Diet dissimilarity

The ANOSIM analysis revealed differences in diet composition among seasons but not demographic groups (Table 8). Winter is the most different season, showing the highest R values and lowest p-values, while summer and spring had no significant difference in diet composition. Nonetheless, SIMPER dissimilarity values ranged from 20 to 30% in all comparisons with Diptera and Algae contributing the most for dissimilarity among seasons. Both food items have a strong seasonal influence in their population dynamics (ZAGATTO *et al.*, 1994; KEIPER *et al.*, 2002) and their contribution to dissimilarity is due to their reduced ingestion as shown by the lower POO in winter (Table 7).

The diet composition is very similar among demographic groups (RM, NRM and F) when all seasons are considered together as evidenced by the ANOSIM analysis (low R-values and no significant difference) (Table 8). This means the inexistence of important intrapopulation variation in the trophic breadth.

When comparing demographic groups considering each season separately, overall significant difference in food composition were observed in spring and summer (ANOSIM, Table 9). The lack of difference between these two seasons when comparing all demographic groups together (Table 8) can be explained by the highest R-values when comparing groups in

each season separately. High R-values indicate a more variable diet among demographic groups in that particular season (Table 9), thus diluting the difference in variability between them (i.e. reduces the seasonality effect).

In both seasons, the item with highest contribution to overall dissimilarity and dissimilarity between non-reproductive (NRM) and reproductive (RM and F) groups is fish (SIMPER, Table 9). The highest contribution of this item to dissimilarity among demographic groups in spring and summer gets even more clear when considering the seasonal fish POO values for each demographic group (Table 7). NRM had lower frequencies of stomachs containing fish in all seasons (9 to 16%) but winter (31%), while F and RM had higher frequency of that food item (24 to 58%) with the lowest values also in winter. NRM access fish as a food resources less frequently than the other 2 demographic groups, and the amount of ingested fish becomes more similar in the demographic groups during winter, when fish consumption of RM and F decreases and of NRM increases.

Diet composition in winter differs from other seasons, but demographic groups within this season present similar diet composition. Hence, winter is the season with least different food composition among demographic groups (lowest R values, Table 9) and this homogenization of diet composition might be due to restricted availability of resources (regarding both amount and variability). This is further indicated by the lower diet composition diversity index (Table 6) and lower percentage of individual items in this season. The lack of fish and Diptera intake increases the consumption of other food items that are less frequent in other seasons, diminishing the individual proportion of each item. Additionally, the absence of difference among demographic groups when all seasons are considered together (Table 8) might also be due to the winter diet homogenization effect, a phenomenon already observed for freshwater species from the Atlantic rainforest (DEUS; PETRERE-JUNIOR, 2003).

Table 8 - Similarity analysis of food items
Tabela 8 – Análise de similaridade dos itens alimentares

Comparison	ANOSIM			SIMPER				
	R	p	Dissim.	Food item (contribution%)				
				1	2	3	4	5
Season								
Overall	0.49	0.000	24.6	Diptera (11.9)	Algae (10.6)	Sediment (9.8)	Fish (9.7)	Copepoda (7.2)
Winter x Spring	0.74	0.001	29.4	Sediment (12.6)	Algae (10.3)	Diptera (10.1)	Fish (9.4)	Decapoda (8.2)
Winter x Summer	0.74	0.001	28.1	Diptera (18.3)	Decapoda (8.1)	Sediment (8.0)	Algae (7.4)	Fish (7.3)
Winter x Fall	0.54	0.001	23.3	Dipera (13.6)	Algae (12.7)	Copepoda (10.1)	Cladocera (8.0)	Fish (7.1)
Summer x Spring	0.22	0.034	24.4	Fish (13.4)	Algae (12.6)	Sediment (11.3)	Diptera (11.0)	Amphipoda (8.9)
Summer x Fall	0.37	0.008	21.9	Algae (12.2)	Diptera (10.1)	Fish (9.7)	Sediment (7.4)	Copepoda (7.4)
Fall x Spring	0.45	0.001	22.5	Sediment (12.4)	Fish (12.4)	Copepoda (11.2)	Algae (9.2)	Diptera (7.4)
Group								
Overall	0.10	0.018	23.7	Diptera (12.3)	Fish (10.8)	Sediment (9.5)	Copepoda (7.0)	Amphipoda (6.6)
NRM x RM	0.17	0.029	24.8	Fish (12.7)	Diptera (9.8)	Algae (9.5)	Sediment (9.1)	Copepoda (7.65)
NRM x F	0.07	0.304	22.8	Diptera (12.0)	Fish (11.7)	Algae (11.4)	Sediment (10.3)	Amphipoda (7.25)
RM x F	0.04	0.548	23.4	Diptera (12.1)	Algae (10.6)	Sediment (9.2)	Fish (7.8)	Copepoda (7.5)

Notas: ANOSIM: dissimilarity values (R) and significance level (p) of overall and pairwise comparison of seasons and demographic groups (RM, NRM, F). SIMPER: dissimilarity values (Dissim.) and the 5 main items responsible for dissimilarity (with proportional contribution) among seasons and demographic groups. RM – reproductive males, NRM – non-reproductive males, F – females. Significant p values are in bold.

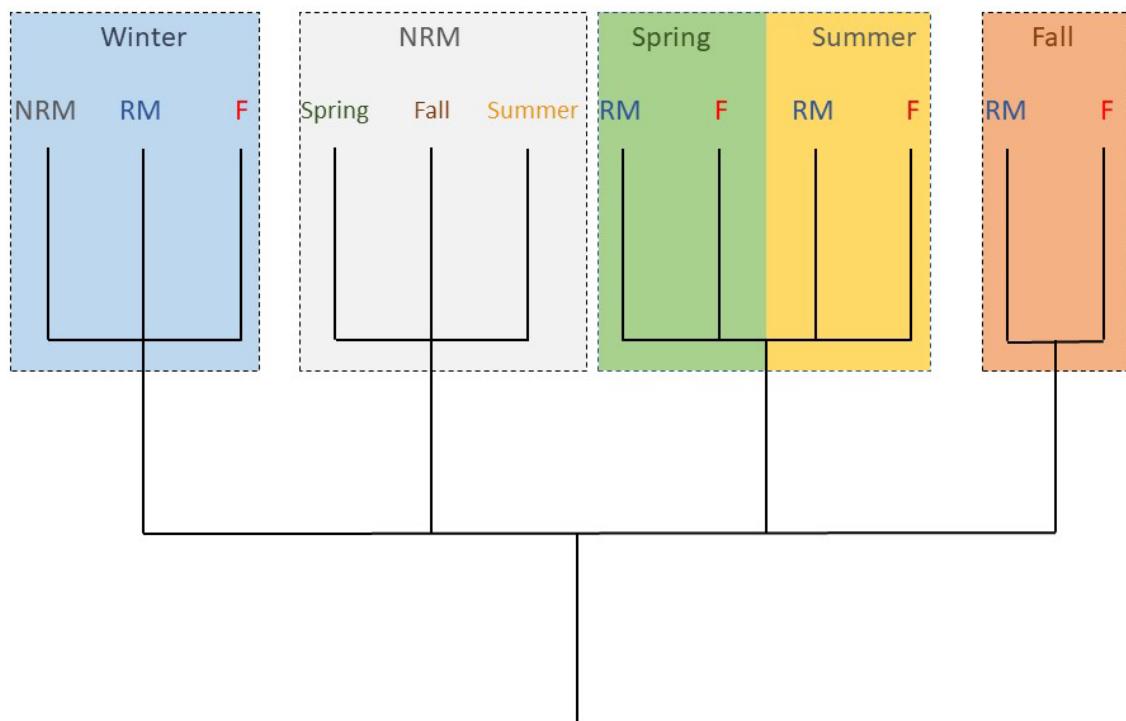
Table 9 - Similarity analysis of food items separated by seasons
Tabela 9 - Análise de similaridade dos itens alimentares separados por estação

Comparison			SIMPER					
	R	p	Dissim.	Food item (contribution %)				
				1	2	3	4	5
Spring								
Overall	0.59	0.004	19.9	Fish (16.9)	Algae (16.2)	Amphipoda (10.1)	Diptera (9.9)	Sediment (9.3)
NRM x RM	0.48	0.297	18.9	Fish (26.8)	Cladocera (8.5)	Amphipoda (7.8)	Sediment (7.8)	Algae (7.7)
NRM x F	0.93	0.295	20.2	Fish (22.4)	Algae (20.2)	Diptera (13.3)	Sediment (10.2)	Amphipoda (7.8)
RM x F	0.48	0.299	20.5	Algae (19.9)	Amphipoda (14.5)	Diptera (11.8)	Sediment (9.8)	Cladocera (9.0)
Summer								
Overall	0.50	0.018	22.0	Fish (13.5)	Coleoptera (10.6)	Sediment (10.2)	Diptera (9.2)	Algae (9.0)
NRM x RM	0.89	0.298	27.1	Fish (16.6)	Coleoptera (11.8)	Diptera (9.7)	Sediment (8.8)	Algae (8.2)
NRM x F	0.41	0.597	21.8	Fish (14.1)	Algae (11.6)	Diptera (10.5)	Coleoptera (10.1)	Sediment (8.2)
RM x F	0.15	0.898	17.0	Sediment (15.1)	Amphipoda (9.9)	Coleoptera (9.3)	Fish (7.9)	Macrophyte (6.9)
Fall								
Overall	0.21	0.125	16.4	Fish (13.7)	Diptera (11.2)	Ostracoda (10.1)	Copepoda (8.6)	Algae (7.5)
NRM x RM	0.30	0.911	17.8	Fish (16.7)	Copepoda (9.4)	Amphibian (9.0)	Diptera (8.9)	Ostracoda (8.9)
NRM x F	0.33	0.611	15.9	Fish (14.9)	Ostracoda (13.6)	Diptera (11.8)	Sediment (8.7)	Algae (6.1)
RM x F	0.04	1,000	15.7	Diptera (13.3)	Copepoda (11.3)	Fish (9.1)	Algae (8.5)	Amphibian (8.5)
Winter								
Overall	0.01	0.306	20.4	Algae (10.9)	Sediment (10.2)	Amphibian (10.0)	Decapoda (9.6)	Copepoda (8.2)
NRM x RM	0.20	0.605	20.4	Sediment (11.4)	Amphibian (10.8)	Copepoda (10.4)	Decapoda (9.0)	Cladocera (8.1)
NRM x F	-0.33	1.000	18.5	Algae (13.3)	Sediment (13.3)	Decapoda (10.5)	Amphipoda (8.9)	Diptera (8.2)
RM x F	0.26	0.303	22.4	Amphibian (13.6)	Algae (11.6)	Decapoda (9.4)	Copepoda (8.7)	Amphipoda (7.6)

Notas: ANOSIM: dissimilarity values (R) and significance level (p) of overall and pairwise comparison of demographic groups (RM, NRM F). SIMPER: dissimilarity values and the 5 main items responsible for dissimilarity (with proportional contribution) among demographic groups. RM – reproductive males, NRM – non-reproductive males, F – females. Significant p values are in bold.

The K-means cluster analysis corroborates the dissimilarity analysis ANOSIM and SIMPER), grouping the diet composition of RM, NRM and F in winter, season which we observed the diet homogenization effect (Figure 23). A second grouping is composed by the NRM diet composition in the remaining three seasons which, as discussed, evidences the difference in the feeding habits of this demographic group when compared to RM and F, with a lower access to animal resources and lower Shannon-Winner diversity index in all seasons (Table 6). The diet composition of RM and F from spring and summer are combined in a third cluster and from fall in the fourth bunch. This analysis also evidences the seasonal effect, separating the Spring-Summer group from fall and winter and reinforces the contribution of the winter data in the mitigation of seasonal influence in diet.

Figure 23 - Dendrogram of the groups of *Procambarus clarkii*
Figura 23 - Dendrorama dos grupos demográficos



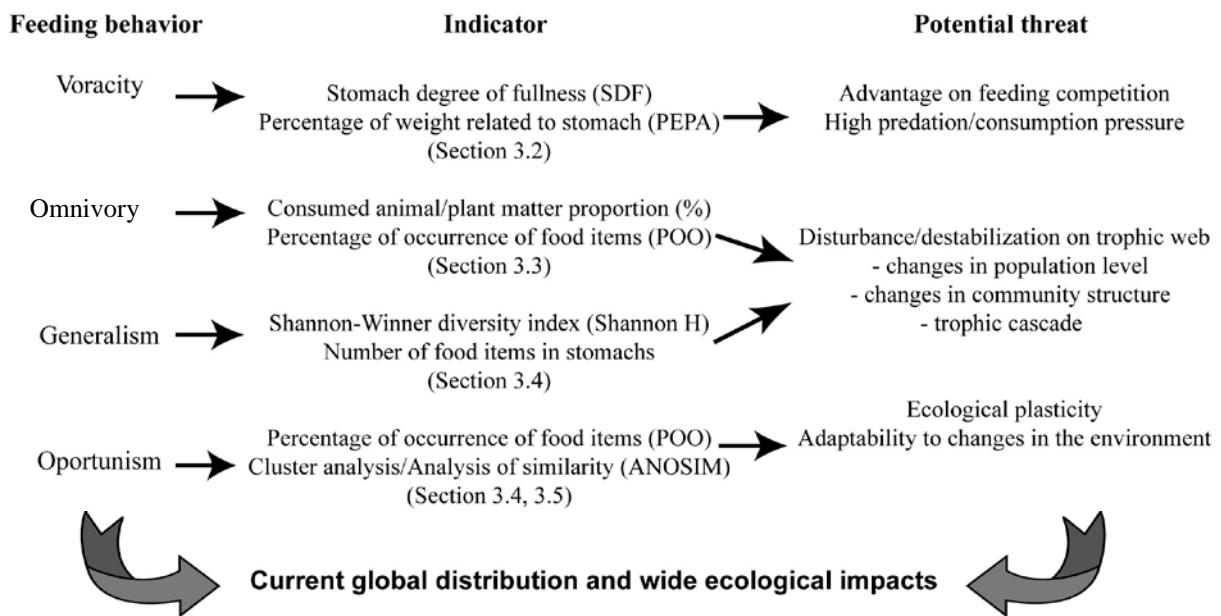
Fonte: LOUREIRO, T. G. *et al. (forthcoming)*.

Notas: Created by 4 group K-mean Cluster Analysis when considering dietary composition (RM, NRM and F) of each season, separately.

3.4.6 Feeding habits overview

Overall, we observed that the red swamp crayfish population at JSP is a voracious, omnivorous, generalist and opportunist consumer. The remarkable **voracity** is indicated by the high SDF and PEPA values (Section 3.4.2). **Omnivory** was confirmed by the balanced proportion of animal and plant matter found in all stomach and POO from different sources (Section 3.4.3). The **generalism** is indicated by the Shannon-Winner diversity index and the observed variety of items in all stomachs (Section 3.4.4). The **opportunistic** behavior is corroborated by the cluster groupings and by the difference of ANOSIM results among seasons with a shift in diet composition according to resource availability (Section 3.4.4). Thus, the feeding habits of *P. clarkii* in Southeast Brazil are very flexible and appear to adapt to the type of available resources, according to the optimal foraging theory (PYKE, 1984).

Figure 24 - Schematic overview of *Procambarus clarkii*'s feeding ecology in JSP
Figura 24 – Resumo esquemático da ecologia trófica no PEJ



Fonte: LOUREIRO, T. G. et al. (*forthcoming*).

Notas: Feeding habits characterization, indicator or analysis used for each definition and corresponding potential outcomes of these features are used to explain the species' current distribution and ecological impacts.

Seasonality did not affect most feeding parameters in this population, probably due to *P. clarkii*'s adaptability and the relative stability of tropical regions, except for a winter homogenization effect in diet composition dissimilarity (Section 3.4.5). The low seasonal

effect might be a consequence of the intrinsic characteristics of the Atlantic forest environments in which seasonality isn't well marked and feeding resources tend to be more constant than in other environments (GOMIERO; BRAGA, 2007). Unlike season, the variation among demographic groups was more pronounced and NRM have a slightly different trophic breadth, with: 1- lower access to resources (Section 3.4.2); 2- lower consumption of animal material (Section 3.4.3); 3- reduced predation on evasive preys (Section 3.4.4); and 4- a narrower variability in the animal source ingestion in all months but winter (Section 3.4.5). This could be a result of the lower competitive skills and morphological disadvantage of this NRM, usually smaller than the reproductive forms, with lower body condition, smaller chelipeds and less pronounced aggressiveness (GUIASU; DUNHAM, 1997, 1998). Along with the gap in POCL (Section 3.4.1) this further indicates that interchange between male forms might not be as frequent (if at all) as presented in the literature.

3.4.7 Diet, invasion success and potential threats

We believe that the diversified and malleable diet described in this investigation is the main feature that facilitates population establishment and range expansion. *Procambarus clarkii* at JSP demonstrated a remarkable dietary variability, consuming large quantities of animal and plant matter of different biological groups. Additionally, the red swamp crayfish has a notable capability of learning how to feed on unfamiliar prey and maximizing their capture rate (RAMALHO; ANÁSTACIO, 2011), which confers them a rapid adaptation to new environments and optimization of resource use. These characteristics are considered crucial to invasion success, removing or decreasing the resource availability as an obstacle to establishment and population growth (OLSSON *et al.*, 2009; ZHANG *et al.*, 2010).

The remarkable voracity summed to its opportunistic, diverse and flexible diet confer a high potential impact of this species, with ample implications for the structure and functioning of invaded communities (STENROTH; NYSTRÖM, 2003; GOZLAN *et al.*, 2010). The impact of an invader increases with diet flexibility which relates to the proportion of the local community (mainly native) that will be affected (SHEA; CHESSON, 2002). The polytrophic feeding habit increases the potential impact of this invasive crayfish directly by the predation of different organisms and indirectly by competition due to diet overlap,

especially with other crustaceans and fishes, and alteration of the energy flow in invaded environments (LODGE *et al.* 1994; USIO; TOWNSEND 2004).

POO of detritus and macrophytes in stomachs was high in all seasons and for all demographic groups. Detritivory and herbivory can lead to profound changes in invaded environments through alterations on the processing of organic carbon and modifications of the littoral zone (DÖRN; WOJDAK, 2004,) through changes in macrophytes composition and abundance (RODRÍGUEZ *et al.*, 2003). These changes in the plant community also affect indirectly animal assemblage by decreasing refuge availability and increasing their predation rate, not only by *P. clarkii* but also by other species (NISHIJIMA *et al.*, 2017). Also, the occurrence of *P. clarkii* in freshwater habitats has already been associated to the decline in macrophytes abundance and diversity (CHUCHOLL, 2013; GHERARDI; ACQUISTAPACE, 2007). The high feeding pressure on macrophytes may reduce aquatic plants responsible to the maintenance of clear water and induce a shift to phytoplankton dominated turbid areas (RODRÍGUEZ *et al.*, 2003; GEIGER *et al.*, 2005).

Crayfish establishment and abundance might influence the diversity and abundance of a great variety of freshwater invertebrates, favoring some while damaging many other. Nyström *et al.* (1996) demonstrated the association of crayfish abundance on invertebrate biomass and diversity, especially for herbivorous and detritivorous species, but also for some predatory groups. Abrahamsson (1966) observed that the most threatened species are those with weak scape response, thus ponds with dense crayfish population might have a predominance of active invertebrate species. Despite the direct impact in species richness and abundance through predation, the reduction of grazers can increase algal biomass, leading to eutrophication, and resource depletion to carnivore predators (FLECKER; TOWNSEND, 1994). The predation on benthic macroinvertebrates might slowdown detrital decomposition (Wallace *et al.*, 1996) and reduce the availability of these groups for both aquatic and terrestrial vertebrate consumers (e.g., fishes, turtles, and birds).

Regarding vertebrate prey, the most common groups in the diet of *P. clarkii* are amphibians and fishes. The predation on amphibians is related to changes in tadpoles' behavior as demonstrated by Almeida *et al.* (2011) and by Nunes *et al.* (2014). Their presence is negatively related to the reproductive success of salamanders, frogs and toads (CRUZ *et al.*, 2006; FICETOLA *et al.*, 2011), contributing to the decline in these populations. Furthermore, injuries and tail loss on tadpoles caused by crayfish are common and may decrease their survival (NUNES *et al.*, 2010; ARRIBAS *et al.*; 2014). The high frequency of fish in stomachs found in this study indicates the great impact of *P. clarkii* in fish species through

direct predation. However, fish are also recorded to feed on crayfish and their presence in freshwater bodies can generate bidirectional trophic interactions (ANASTÁCIO *et al.*, 2011). Besides the direct impact on fish due to predation, crayfish are also indirectly associated to the decline of fish populations by competition (LIGHT, 2005) and reduction of macrophytes, which provide shelter to juvenile fish (RUBIN; SVENSSON, 1993).

This paper is the first study regarding the red swamp crayfish trophodynamics in Brazil and its possible threats to Brazilian aquatic ecosystems. Our results indicate that the trophic interaction might cause major impacts. Recently, Loureiro *et al.* (2018) estimated the population located at PEJ to be around 3500 individuals. The mean weight of stomach content for the animals analyzed in this study is 0.3 g. Multiplying the mean weight of items consumed by *P. clarkii* by the estimated number of individuals, we have an approximation of 1 kg of material consumed per day by this population. Within a year, this would represent well over 380 kg of consumed material, since very young juveniles were not quantified. Therefore, the impact on biomass productions and the changes in the dynamics of invaded environments can't be ignored.

The inexistence of any period of resource scarcity, probably due to the remarkable capability of diet shifting and high diversity of items consumed, complicates the design of a management strategy. However, winter is the only season when all demographic groups have a more homogeneous diet, consuming a smaller variety of animal sources and showing significantly similar items consumption among the 3 demographic groups (Table 8); it is also during winter that we observed lower occurrence of full stomachs (Table 4). Hence, the winter seems to be the most unfavorable and challenging season for these animals and therefore efforts for population control and animal removal should focus in this season in order to improve population management results. During winter, the variability of resources seems to decrease, diet becomes more homogeneous so this could be the best month to focus in intensive population control.

Aquatic ecosystems are especially vulnerable to ecological modifications resulting in trophic cascade when a top predator has an indirect interference in one or more species at the bottom of the food chain, and the biomass of primary producers is modified (PACE *et al.*, 1999). The consumption of food resources from the littoral, benthic and pelagic zones can alter the whole-lake food web and functioning since each lake zone supports a different biological community (SCHINDLER *et al.*, 2001). Besides the modifications in the freshwater ecosystem itself, *P. clarkii* may affect other groups of the surrounding terrestrial

biota, as piscivorous birds, mammals and insects (EPANCHIN *et al.*, 2010; RICCIARDI; MACISAAC, 2011).

3.5 Final remarks

Freshwater species distribution is shaped by the interaction among animal habits, habitat physical conditions and resources availability (including food) (MERRIT; CUMMINS, 1984). For introduced species, this synergy of variables is also determinant, separating purely exotic species from those that really became invasive. When the recipient environment has available niche opportunities for introduced species, i.e. resources are not fully used, they have higher chances to become invaders. Knowledge on their insertion in this vacant niche will help to understand their impact in the trophic net and on environmental functioning.

Several issues concerning *P. clarkii*'s ecology at JSP were addressed in this study, but some observed traits such as the small body size and low weight of individuals captured in this study must be better explored. Based on the size distribution histogram and on the fact that larger females are less frequently captured due to intense sheltering behavior, the non-normal distribution of females' size with a low frequency of larger animals suggests that the average population size might be higher than estimated by the mean in this study. The ecological and evolutionary importance of body size to an organism and its relation to potential for resource exploitation and susceptibility to natural enemies has been well established (ANICHINI *et al.*, 2018) so this feature might bring crucial information regarding invasive status and management.

The population examined in this study, as all known Brazilian populations of the invasive *P. clarkii*, is located in an Atlantic Forest conservation area, an endangered ecosystem with high biodiversity and endemism (DA FONSECA, 1985; MYERS *et al.*, 2000). Indeed, the JSP houses many native plants and animals as well as endangered and endemic species, e.g. *Aegla jaragua* Moraes, Tavares and Bueno 2016, a freshwater anomuran that only occurs in this location and is classified as critically endangered according to IUCN criteria (MORAES *et al.* 2016). Therefore, the presence of *P. clarkii* in this location may cause the extinction of several endemic species.

Trophic ecology and interactions among species affect the dynamics and productivity of ecosystems, especially when an invasive species colonizes a new habitat and is capable to change and redefine the feeding interactions in a remarkable way as we demonstrated that *P. clarkii* is able to, in a large extent. Freshwater habitats are exceptionally susceptible to environmental change, and exhibit marked ecological gradients. Predicting the role and impact of *P. clarkii* in aquatic food webs is certainly challenging because they may occupy

multiple trophic position, consuming a great variety of food resources while presenting flexible feeding behavior.

We have evidenced the role of foraging habits and voracity in invasion success of this crayfish, being able to use different food sources according to availability and the inexistence of a season or a demographic group in which individuals are submitted to any major resource constraints. If a specific time should be selected to focus on population management, we suggest the winter: the most vulnerable season since stomachs are a little bit less full and feeding resources are less diverse. The wide diet composition and voracity also provide insights about the major impacts associated to this species' establishment, whereas macrophytes, crustaceans, insects and fish are the most vulnerable groups. Thus, it is of paramount importance to avoid further introductions and to contain the range expansion of established populations.

CAPÍTULO IV

4 - Genetic variation of introduced populations of *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) (Crustacea, Decapoda, Cambaridae) in Brazil

TAINÃ GONÇALVES LOUREIRO, PEDRO MANUEL ANASTÁCIO, SÉRGIO LUIZ DE SIQUEIRA BUENO, AMANDA PORCIUNCULA HORCH and PAULA BEATRIZ ARAUJO

4.1 Abstract

Freshwater ecosystems are fundamental for the maintenance of biodiversity, ecosystem services and human health and economics. In Brazil, the introduction of exotic species figures among the main reasons responsible for the degradation of limnetic environments, particularly the freshwater crayfish *Procambarus clarkii*. This species is native from North America. In Brazil 15 populations are known so far, all in the state of São Paulo, where the main vectors of introduction are the aquarium trade, its usage as live baits and noncommercial culinary purposes. Very few information is available regarding its invasion mechanism, and historic backgrounds of this process in the Brazilian territory is scarce. In order to investigate the genetic diversity of Brazilian populations and verify the geographic patterns of invasion, we collected animals from 9 populations from different locations in the state of São Paulo, resulting in 120 samples analyzed. DNA was extracted using CTAB method, and the mitochondrial gene COI was amplified and sequenced. Additionally, to verify the genetic relation among individuals from Brazil and the native range, 18 sequences from *P. clarkii* from USA and Mexico were accessed on GenBank. Aligned sequences were evaluated regarding the traditional genetic diversity parameters. Nucleotide diversity was low for both native and invasive samples, although haplotype diversity was high. On total, 60 haplotypes were found, being 10 shared by more than one individual and 7 shared by individuals from different populations. No haplotype is shared between native and Brazilian populations. However, some native populations share 3 haplotypes and some Brazilian share 4 haplotypes.

KEYWORDS: Invasive Alien Species (IAS), Red Swamp Crayfish, COI, mtDNA, Nucleotide diversity, Haplotype diversity.

4.2 Introduction

Freshwater ecosystems are key environments for biological conservation due to their high biodiversity, productivity and great relation to human activities (MITSCH; GOSSELINK, 2000; DIJKSTRA *et al.*, 2014). These same characteristics are related to the notable vulnerability of limnetic habitats, which are under high pressure as a result of pollution, canalization, introduction of Invasive Alien Species (IAS), among other factors (RICCIARDI; RASMUSSEN, 1998; SUSKI; COOKE, 2007).

Amongst the freshwater invasive species in the world, is the wide distributed *Procambarus clarkii* Girard, 1852, also known as Red Swamp Crayfish, a crustacean native from north-eastern Mexico and south-central United States and invasive in many countries of Central and South America, Europe, Asia and Africa (GHERARDI, 2006; LOUREIRO *et al.*, 2015b). Its main introduction vector is aquaculture, but pet trade and fishery (used as live bait) also play an important role as a human-mediated factor.

The Red Swamp crayfish gather many characteristics that promote its adaptable and flexible ecology, facilitating the successful establishment in diverse freshwater environments, such as: polytrophism, rapid growth, high fecundity and disease resistance (ADAO; MARQUES, 1993; GUTIÉRREZ-YURRITA; MONTES, 1999; GHERARDI, 2006; AQUILONI; GHERARDI, 2008). It is also a species with remarkable locomotion capabilities whose dispersal rates exceed most of the estimated rates (YI *et al.*, 2018). Thus, from an introduced location, this crayfish can easily colonize adjacent areas and expand.

Impacts related to the establishment of this species range from economic aspects (damages to dam and paddy field due to intense burrowing behavior) to biodiversity conservation (threats to native species due to competition, predation and disease transmission) and human health (disease transmission) (NYSTRÖM, 2002; RODRÍGUEZ *et al.*, 2005; LOUREIRO *et al.*, 2015b).

In Brazil, there is a legislation since 2008 (Anexo 1) forbidding the cultivation, commercialization and transportation of *P. clarkii*. However, as demonstrated by Loureiro *et al.* (2015a), its illegal selling is still occurring, probably as a result of weak surveillance and lack of information available to pet traders, aquarists and fishermans. There are 15 established populations so far, all in the state of São Paulo (Figure 6) and the main introduction vector is the aquarium trade; live bait for fishing and noncommercial culinary usage are believed to be responsible for secondary translocations (SILVA; BUENO, 2005; MAGALHÃES *et al.*, 2005; BANCI *et al.*, 2013; LOUREIRO *et al.*, 2015a). There are no certainties about the

introduction date and any solid information about introduction background or source populations. Historical information about the invasion are important to understand the frequency with which a species is introduced into a specific area, how population growth rates evolves and what are the patterns of spread across the natural landscape. Answering this questions may help to define adequate management strategies (SAKAI *et al.* 2001).

Mitochondrial DNA (mtDNA) is easy to amplify, especially when compared to microsatellites, and highly variable in natural populations due to its high mutation rate (BALLARD; WHITLOCK, 2004; GISSI *et al.*, 2008). In relation to invasive species genetics, the mtDNA can provide important information about genetic variation of native and invasive populations and their relationship.

Genetic variation knowledge of introduced populations can provide information about the source of invasive individuals, whose origin is frequently unknow, and may also help to understand how the introduction of few individuals might lead to populations with numerous individuals, despite the assumed limited genetic variation provided by the small number of founders (TSUTSUI *et al.*, 2000). To identify source population is one of the main focus for invasive managers and policy makers, since this information may lead to actions to avoid future introductions (TORRES; ÁLVAREZ, 2012)

Additionally, genetic information might help to deduce some historical backgrounds of the invasive processes. In this context, the goal of this study is to investigate the genetic variation of Brazilian populations of *P. clarkii* and infer its historical and geographical invasion patterns, which are crucial data to engage in management practices (ZHAN *et al.*, 2012).

4.3 Material and methods

4.3.1 Study site and field work

A total of 120 individuals of *P. clarkii* were collected from 9 different population (Table 10 and Figure 25). In each site, animal capture was performed with the aid of aluminum baited traps (Figure 8) set underwater in the evening and removed early in the following morning (LOUREIRO *et al.*, 2018). Sampled animals were fixed in 100% Ethanol.

To avoid contamination by *A. astaci*, all field and laboratory material were carefully washed with sodium hypochlorite for disinfection (BULLER, 2008).

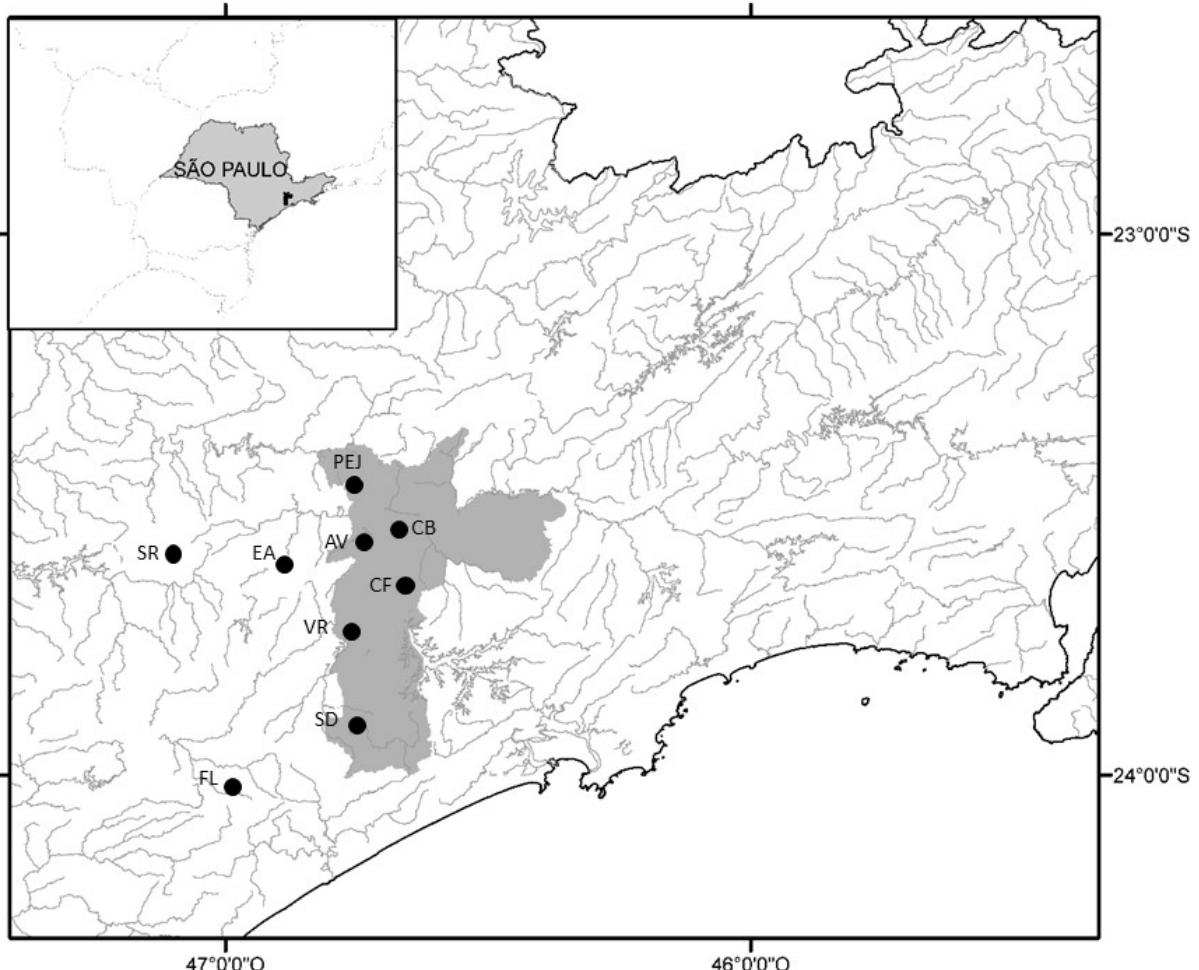
Table 10 - Native and invasive populations analyzed regarding genetic variation

Tabela 10 – Populações nativas e invasoras analisadas

Code	Country	City-State	Range	N	Latitude	Longitude	Access number
AV	Brazil	São Paulo-SP	Invasive	12	23°35'16"S	46°42'09"W	-
SD	Brazil	São Paulo-SP	Invasive	14	23°38'32.9"S	46°40'57"W	-
CB	Brazil	São Paulo-SP	Invasive	16	23°30'19.5"S	46°43'41.1"W	-
VR	Brazil	São Paulo-SP	Invasive	11	23°30'50.64"S	46°44' 56.36"W	-
PEJ	Brazil	São Paulo-SP	Invasive	16	23°27'49.47"S	46°45'17.86" W	-
CF	Brazil	São Paulo-SP	Invasive	10	23°38'24"S	46°40'39.4"W	-
EA	Brazil	Embu das Artes-SP	Invasive	11	23°38'16.60"S	46°52'29.72"W	-
SR	Brazil	São Roque- SP	Invasive	19	23°35'08.80"S	47°06'22.37"W	-
FL	Brazil	Juquitiba -SP	Invasive	11	23°57'53.2"S	47°00'52.3" W	-
LOU1A	USA	Kaplan- LA	Native	8	29°59'29.5"N	92°15'36.8"W	JN000904
ILL2A	USA	St. Louis, Illinois	Native	1	37°08'18.8"N	89°20'33.5"W	AY701195
LOU1B	USA	Kaplan- LA	Native	1	29°59'29.5"N	92°15'36.8"W	JN000905
LOU3A	USA	Baton Rouge, LA	Native	1	-	-	KJ645853
LOU3B	USA	New Orleans, LA	Native	1	-	-	KJ645854
LOU4A	USA	LA	Native	1	-	-	JX120105
LOU4B	USA	LA	Native	1	-	-	JX120105
LOU4C	USA	LA	Native	1	-	-	JX120107
LOU4D	USA	LA	Native	1	-	-	JX120108
ALA5A	USA	Tuscaloosa County, AL	Native	1	-	-	KX417114
TEX3A	USA	Fort Bend, TX	Native	1	-	-	KJ645842
TEX3B	USA	Comal, TX	Native	1	-	-	KJ645843
TEX3C	USA	Kendall, TX	Native	1	-	-	KJ645844
TEX3D	USA	Travis, TX	Native	1	-	-	KJ645845
TEX3E	USA	McLennan, TX	Native	1	-	-	KJ645846
ARZ3A	USA	Cache River, AZ	Native	1	-	-	KJ645847
CON1A	Mexico	Jiménez, COA	Native	1	29°09'16.3"N	100°45'51.5"W	JN000901
CON1B	Mexico	Jiménez, COA	Native	1	29°09'16.3"N	100°45'51.5"W	JN000902

Notas: Location (Country, City, State and geographic coordinates), number of sampled individuals within each location (N) location and access number (for sequences obtained from GeneBank only) are provided.

Figure 25 - Invasive populations analyzed regarding genetic variation
Figura 25 – Populações invasoras analisadas quanto a variabilidade genética



Fonte: Elaboração da autora.

Notas: Population code according to Table 10.

4.3.2 Laboratory and Molecular analysis

Collected animals were sexed according to Sukô (1953), Huner (1981) and Huner and Barr (1991) and measured with a digital caliper from the internal margin of the ocular orbit to the distal margin of the cephalothorax (postorbital carapace length - POCL). The muscular pleonal tissue was dissected, fixed in 100% Ethanol and preserved for molecular analysis under -20°C.

The DNA from the tissue samples was extracted following cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) protocol. Sequences of near 700 pb of the mitochondrial gene COI were obtained using the universal primers LCO and HCO (FOLMER *et al.*, 1994). All reactions were carried out in volumes of 25 µL, using 1 µL of DNA, 0.16 µL of Taq Platinum (5U µL⁻¹

¹), 2.5 µL of 10X buffer, 1.66 µL of MgCl₂ (50mM), 0.5 µL of each primer (20 µM) and 18.18 µL of ultrapure water. COI amplification on thermal cycling were: 95°C for 2 min, followed by 35 cycles of denaturation at 94°C for 30 sec, annealing at 49°C for 30 sec and extension at 72°C for 1.3 min, followed by a final extension at 72°C for 5 min. The PCR product was verified by electrophoresis, visualized in a UV transilluminator and positive samples were purified and sequenced.

Additionally, to investigate possible source populations, we compared the genetic variation in the mitochondrial gene COI of Brazilian populations with samples from the native range (USA and Mexico) obtained from GeneBank (Table 10).

The sequences obtained were visually analyzed and aligned on BioEdit version 7.0, using the ClustalW tool (HALL; 1999). After alignment, to determine the degree of variation between sequences, the following descriptive genetic parameters were estimated with DnaSP v5: nucleotide diversity (Pi), number of haplotypes, haplotype diversity (HD) and number of variable sites and G/C content (LIBRADO; ROZAS, 2009). To verify distance between populations, a divergence analysis between populations was performed, comparing pairs of populations per test on DnaSP v5. (STROBECK, 1987).

To verify the relationship among populations, a haplotype network was constructed on Network version 4.5.1.0 (www.fluxus-engineering.com/network_terms.htm) with the algorithm *median joining* (BANDELT *et al.*, 1999).

The mtDNA sequences generated in this study will be deposited in GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank).

4.4 Results and Discussion

A total of 120 sequences were generated from the 9 Brazilian populations and 18 sequences from the native Range were obtained (Table 10). Sequences final size were 667 base pairs after alignment, similar to the size found by Liu and Zhou (2017), Torres and Álvarez (2012) and Li *et al.* (2012). The total number of polymorphic sites was 460 and this parameter varies considerably among studies (Table 11) and might be influenced by the number of sequences analyzed.

Table 11 - Genetic diversity index of native and invasive populations
Tabela 11 – Índices de diversidade genética

	Total	This study			Reference		
		Native	Invasive (BR)	Liu & Zhou, 2016	Torres & Álvarez, 2012	Li et al., 2012	
N	138	18	120	370	37	313	
Sequence size (BP)	667	667	667	687	689	637	
Number of variable sites	460	310	349	347	26	15	
Haplotypes number	60	15	31	44	12		
G/C content (%)	32.7	32.6	32.9	31.9	32.47	-	
Haplotype diversity (HD)	0.8	0.98	0.76	0.512	0.901	0.403	
Nucleotide diversity (Pi)	0.2485	0.27576	0.24526	0.007	0.0084	0.0022	
Location	BR, MEX and USA	MEX and USA	BR	China	USA, MEX and Costa Rica	China	
Range status	Native and invasive	Native	Invasive	Invasive	Native and invasive	Invasive	

The percentage of G/C content was 32.7%, indicating a prevalence of A/T bases in the COI gene of this populations and that is possibly a characteristic of this species since other studies from both native and invasive ranges found similar results (Table 11) and it is also similar in decapods (YANG *et al.*, 2007).

The total nucleotide diversity (Pi) was equal to 0.2485 and when considering native and invasive populations from Brazil separately, nucleotide diversity was Pi= 0.27576 and Pi= 0.24526 respectively. The nucleotide diversity was low (Pi< 0.5) in all analysis and even lower in other studies (Table 11). The total haplotype diversity (HD) was equal to 0.8. When considering native and invasive samples separately, HD was equal to 0.98 and 0.76, respectively. All HD values are considered high (HD>0.5) and as expected, it is higher on samples from native area. HD values found in this study are similar to the ones found by Liu and Zhou (2017) and Li *et al.* (2012) for invasive populations from China and by Torres and Álvarez (2012), studying populations from native and invasive range (Table 11).

The divergence analysis between populations demonstrated that some Brazilian populations are very similar to specific samples from native areas or related among each other (Table 12). The AV population seem to be close to CON and ILL and deviates greatly from CB and SR. CB can be assigned to TEX and ARZ but diverges from all Brazilian populations but SR. CF seems to be related to ILL and ALA from native range and to AV, EA and FL from Brazil. SD, VR, EA, FL and SR do not seem to be similar to any of the native samples analyzed (Table 12). However, SD and FL are close to CF and the introduction in these sites could be a result of translocation among Brazilian areas. The PEJ, VR, EA and SR populations diverge from all other populations both from Brazil and native range. Since these samples could not be assigned to any population studied here, the source of introduction might be other invasive population elsewhere (e.g. China, Spain, France).

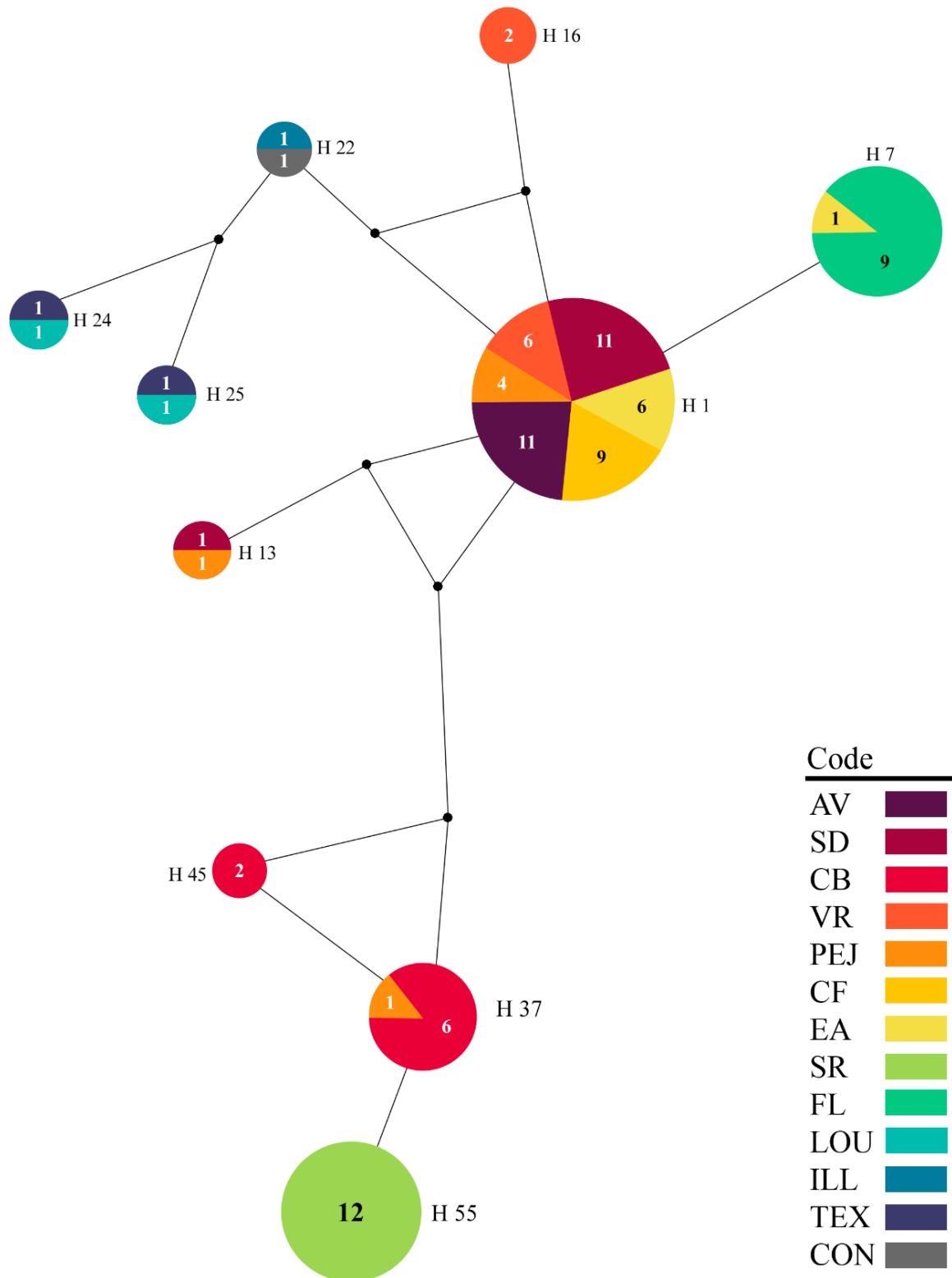
Sixty haplotypes were found, 50 unique haplotypes and 10 shared haplotypes (between 2 to 17 individuals). From the 10 shared haplotypes, 7 were assigned to individuals from different populations and the haplotype 1 (H 1) was the most widespread, being shared by AV, SD, VR, PEJ, CF and EA. CB shares 1 haplotype with PEJ and FL shares 1 haplotype with EA. SR doesn't share haplotypes with any other population. There is no haplotype shared among native and invasive samples (Figure 26).

Table 12 - Nucleotide diversity (Pi) between populations
Tabela 12 – Diversidade nucleotídica entre populações

	AV	SD	CB	VR	PEJ	CF	EA	SR	FL	LOU	ILL	ALA	TEX	ARZ	CON
AV	0.00027														
SD	0.00087	0.00138													
CB	0.26277	0.00126	0.00126												
VR	0.00471	0.00908	0.26148	0.00908											
PEJ	0.22944	0.29081	0.20722	0.23769	0.29081										
CF	0.00029	0.00093	0.25469	0.00512	0.24025										
EA	0.00313	0.00346	0.26019	0.00758	0.23631	0.0034	0.00603								
SR	0.2568	0.26372	0.00482	0.25375	0.19669	0.24551	0.25258	0.00669							
FL	0.00559	0.00594	0.26209	0.01036	0.23827	0.0059	0.00823	0.25409	0.00615						
LOU	0.10196	0.09338	0.20646	0.11109	0.27571	0.11226	0.10921	0.19212	0.11187	0.22736					
ILL	0.00051	0.0011	0.06269	0.00723	0.28771	0.0003	0.00541	0.05769	0.00603	0.20695	0				
ALA	0.00152	0.00197	0.06289	0.00832	0.28823	0.0015	0.00645	0.05787	0.00658	0.20782	0.655	0			
TEX	0.22879	0.21249	0.00274	0.24232	0.26741	0.24697	0.23963	0.00619	0.24145	0.28353	0.17665	0.17723	0.00594		
ARZ	0.08069	0.07036	0.00246	0.09501	0.28788	0.09533	0.09128	0.24551	0.09194	0.26532	0.52364	0.52539	0.00676	0	
CON	0.0009	0.00141	0.11032	0.00717	0.28428	0.00077	0.00548	0.09958	0.00664	0.1898	0.00109	0.00546	0.25002	0.35026	0.00164

Notas: Populations codes are according to Table 10.

Figure 26 - Haplotype network of shared haplotypes from *Procambarus clarkii*
Figura 26 – Rede de haplótipos compartilhados



Notas: Unique haplotypes were excluded. Population code according to Table 10. Haplotype code is beside circles. Circles represent the haplotype and circle size is according to its frequency. Different colors represent each population. Numbers indicate the quantity of individuals of each population sharing the specific haplotype.

The genetic variation of populations is a result of the interaction among a variety of features as population size, mutation rates, gene flow among populations, and natural selection, all those influenced by historical effects (e.g., population bottlenecks) (FRANKHAM *et al.*, 2010). In general, successful invasive species have high genetic diversity which is commonly related the potential to adapt to new environments and to reduce inbreeding. Furthermore, the combination among natural range expansion with human-mediated jump dispersal, by intentional or unintentional carry, can affect genetic diversity and population structure, increasing the genetic variation to values above normal (LI *et al.*, 2015).

Nonetheless, the genetic diversity of populations analyzed in this study is low and agrees with other studies in which the red swamp crayfish showed low genetic variation in both native and invasive range (YUE *et al.*, 2010; BARBARESI *et al.*, 2007). Lower genetic variation, especially when considering invasive species, might be a result of the introduction of few individuals to a location. Thus, genetic variation would be expected to be lower than in native populations (HANDLEY *et al.*, 2011). On the other hand, if the invasion is a result of introductions of individuals from different sources or multiple introduction events occurred in the same location, genetic variation would be expected to be higher (HANDLEY *et al.*, 2011).

One of the first studies to explore the genetic variability of *P. clarkii* was carried out by Busack (1988), using enzyme electrophoresis to investigate populations within the native range. The low heterozygosity and genetic distance found by Busack (1988) lead him to assume a probable recent origin of the species.

More recently, Barbaresi *et al.* (2007) studied several invasive populations in Europe (Italy, Spain, France, Portugal and Switzerland) using the molecular markers 16S and COI; these authors found no variation in the 16S sequences, with only one haplotype, and very low genetic variation among COI sequences. Yue *et al.* (2010) studied invasive populations from China using microsatellites and also found a “significant heterozygote deficit”, thus assuming the occurrence of recent bottlenecks to explain the reduced genetic variability observed in Chinese populations. Additionally, Torrez and Álvarez (2012) studied native and invasive populations from Mexico and Costa Rica and using COI and found an overall low genetic variation among populations.

All these studies, summed with the results found in Brazil, indicate that *P. clarkii* might be a species that naturally exhibits low genetic variation in both native and invasive range and individuals are genetically very similar, despite being a successful invader worldwide. Considering this, introduced populations will have low genetic variation

independently of the number of introduced individuals. The great success of this freshwater crayfish invasion, despite low genetic diversity might be explained by the “general-purpose genotype” theory, suggested by Baker (1965), in which the plasticity different phenotypes would allow species to cope with diverse environmental conditions.

The present research indicated that the genetic variation in COI of invasive Brazilian populations is lower than in native areas, indicating that the invasion process was a result of the introduction of few individuals and that no events of reintroduction are taking place, at least not in an important fashion. Also, the analysis suggests that the source of introduction of Brazilian populations might be from different sources, some from native range, some from other invasive Brazilian populations, and others from populations that were not contemplated in this study.

Finally, our result demonstrated that the mtDNA can be useful to infer some information regarding population relationship and background of introduction. However, further studies using specific microsatellites are needed, since different molecular techniques to explore genetic diversity will bring different results, especially when such low genetic variation is found. Additionally, it is interesting to explore how a species that exhibits incredibly low genetic variability, as *P. clarkii*, can be such a profitable invader in remarkable different environments.

CAPÍTULO V

5 – Sugestões para o manejo da EEI Lagostim-Vermelho:
Considerações a partir das especificidades de *Procambarus clarkii* e possibilidades de implementação com base na legislação brasileira

5.1 Marcos legais

Nos últimos 30 anos uma série de ordenamentos jurídicos vem sendo construídos para lidar com a temática das EEIs. Esse processo ocorre em escala global, através de organizações internacionais que passam a se preocupar com as invasões biológicas a partir de uma perspectiva normativa e elaboram documentos que servem como bases para a definição de leis e regulações em nível local. Reconhece-se a partir deste momento, e cada vez mais, a necessidade de criar diretrizes internacionais que possam servir de subsídio na construção de mecanismos legais por países que garantiriam o cumprimento de acordos. Também ocorre em escala local (seja em nível nacional, estadual e municipal), uma readequação das recomendações que emanam destes encontros internacionais para suas realidades, pelos órgãos governamentais.

Esse interesse em trazer à tona questões já muito antes levantadas por cientistas como Darwin (LUDSIN; WOLFE, 2001) e Elton (2000), é resultado direto dos impactos provocados pela intensificação do deslocamento de espécies ao redor do globo. Atualmente existem mais de 50.000 navios mercantes navegando pelo oceano e diariamente mais de 10.000 aeronaves cruzam o espaço aéreo. Soma-se a isso o transporte terrestre cujos números são inestimáveis. A questão das EEIs atualmente é de extrema importância porque a escala em que os humanos, animais, plantas e microrganismos se movem ao redor do globo é inédita. Esse cenário demanda a composição de um ordenamento legal que dê conta de parametrizar regras e estabelecer normas que possam conduzir à ação.

O objetivo desta seção é compreender em linhas gerais os marcos legais que dão subsídio às práticas de manejo de EEIs. O foco será compreender quais são as bases jurídicas que subsidiam o manejo do Lagostim-Vermelho no Brasil. Para que possamos alcançar tais objetivos, trazemos uma síntese de pontos específicos da legislação, buscando correlações a partir dos acordos internacionais ratificados pelo Brasil.

5.1.1 Acordos e atores internacionais

O processo de invasão biológica está relacionado ao deslocamento humano no planeta e vem ocorrendo em diferentes escalas desde o surgimento da nossa espécie. Entretanto, no momento em que os humanos passam a transitar por grandes distâncias em curtos espaços de

tempo e em grande escala, a questão do deslocamento das espécies de animais, plantas e microrganismos ganha dimensões renovadas. Isso fez com que cientistas e tomadores de decisão, especialmente a partir da década de 1980, reconhecessem as invasões biológicas como um dos problemas ecológicos contemporâneos mais complexos a ser enfrentado. Seus impactos sociais e econômicos podem ser nocivos às realidades locais e são múltiplos os casos em que EEIs causaram danos econômicos e sociais expressivos (PIMENTEL, 2000; PIMENTEL *et al.*, 2005).

Liderados pelo Comitê Científico para Problemas Ambientais (SCOPE— *Scientific Committee on Problems of the Environment*) no início da década de 1980, diversos cientistas passam a tentar compreender os processos que envolvem as invasões biológicas e resultam em importantes publicações na temática (ZENNI, 2016). Estes estudos foram fundamentais no reconhecimento da necessidade de inclusão da temática das EEIs na agenda conservacionista, o que se concretiza a partir da Convenção sobre a Diversidade Biológica (CDB) de 1992 em Nairóbi. A Conferência nesse ano foi resultado de uma noção que já vinha sendo concebida no final da década de 1980 pelos integrantes do Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA) e encaminhava à organização de uma convicção internacional em biodiversidade. A partir da Eco-92 no Rio de Janeiro as assinaturas começam a ser colhidas e atualmente 196 países já assinaram o acordo.

A CDB é o documento normativo internacional mais influente a respeito das temáticas envolvendo a biodiversidade e a questão das EEIs aparece em seu artigo 8º que trata da “Conservação *in situ*”: “Cada Parte Contratante deve, na medida do possível e conforme o caso: h) Impedir que se introduzam, controlar ou erradicar espécies exóticas que ameacem os ecossistemas, habitats ou espécies” (MMA, 2011). Entretanto, apesar de sua importância, a convenção traz em linhas gerais sugestões aos países signatários do acordo, não possuindo ingerência sobre questões locais. Conforme o princípio da CDB, exposto em seu artigo 3º:

Os Estados, em conformidade com a Carta das Nações Unidas e com os princípios de Direito internacional, têm o direito soberano de explorar seus próprios recursos segundo suas políticas ambientais, e a responsabilidade de assegurar que atividades sob sua jurisdição ou controle não causem dano ao meio ambiente de outros Estados ou de áreas além dos limites da jurisdição nacional (*Ibid.*, p. 10).

As formulações “na medida do possível” e “conforme o caso” são repetidas em diversos artigos da Convenção, sinalizando que o documento foi construído a partir de ponderações a respeito das diferenças entre os países quanto às suas condições de possibilidade de implementação das sugestões. Essa diferença, em que alguns países possuiriam melhores aparatos tecnológicos, humanos e institucionais para enfrentar os

desafios colocados pela convenção, não possui fronteiras tão bem demarcadas como sugere o documento.

Por diversas vezes a convenção se refere a uma divisão entre países em desenvolvimento e desenvolvidos, que portariam condições diferenciais para o cumprimento do acordo. Entretanto, percebemos que condicionantes locais podem ser vetores de maior engajamento em políticas de preservação. Um exemplo emblemático é o caso das políticas de prevenção, controle e manejo de EEIs na África do Sul, país que desponta como referência quanto às políticas adotadas como através do projeto Working for Water (WfW) (ainda que seja um país “em desenvolvimento”), precisamente por ter sido alvo de efeitos nocivos das invasões biológicas.

Em contraposição à Ricciardi *et al.* (2017), Zenni *et al.* (2017) sugerem que a concepção de que os países em desenvolvimento estariam mais vulneráveis às EEIs, e que poderiam agir como fonte para dispersão de espécies em regiões desenvolvidas, é uma generalização que não dá conta de compreender uma realidade complexa. Para os autores, haveriam dois equívocos fundamentais nessa hipótese: primeiro, ao ignorar esforços dos países em desenvolvimento para lidar com invasões e que servem de exemplo para todas as nações, independentemente de sua configuração geopolítica - como é o caso emblemático da África do Sul, bem como México, Jamaica, Guiana, Cuba, Brasil, Colômbia, Uruguai, Argentina e Chile, países que vem empreendendo esforços na elaboração de estratégias para EEIs alinhadas com a CDB (ZENNI *et al.*, 2017); segundo, devido ao idioma dos bancos de dados das EEIs, elaborados em português e espanhol e que dificultariam o acesso aos atores como Ricciardi *et al.* (2017).

Esses elementos combinados fazem com que seja mais frutífero que analisemos casos específicos de políticas empreendidas pelos países no manejo e controle das EEIs do que seguir uma divisão que coloca em lados opostos países aptos e inaptos a lidar com o problema.

Outra importante iniciativa internacional em relação às EEIs é o Grupo de Trabalho para Espécies Invasoras da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN). Os trabalhos deste grupo influenciam direta e indiretamente iniciativas de regulação em relação às EEIs, como na elaboração do Plano Estratégico da CDB que define 20 alvos principais para atuação. O alvo número 9 refere-se às EEIs e sugere que até 2020, EEIs e seus vetores de introdução devam ser identificados e priorizados, as espécies prioritárias devem ser controladas ou erradicadas e que até esta data entrem em vigor medidas para gerir os caminhos para prevenção de introdução e estabelecimento. O Plano Estratégico abre espaço a

iniciativas nacionais que criem “sinergias entre a CDB e outros processos internacionais” (CDB, s/d), como nos acordos da International Convention for the Control and Management of Ships' Ballast Water and Sediments, International Plant Protection Convention, International Organization for Animal Health (OIE) e da World Trade Organization's Committee on the Agreement for the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures (OIE, 2009).

Percebemos através deste breve panorama sobre os atores e acordos interacionais acerca das EEIs que há incentivos amplos e que fundamentam em linhas gerais as medidas que serão reformuladas localmente. Entretanto não há, nesses acordos e convenções, políticas específicas para lidar com o mercado ilegal de comércio global de animais de estimação, que se apresentam como uma fonte mundial de EEIs e uma crescente ameaça à biodiversidade (DA ROSA *et al.*, 2018). Para que possamos lançar luz nesta temática, exploraremos na próxima seção os elementos legais no Brasil que dirimem as lacunas existentes em relação à políticas específicas para a invasão de *P. clarkii*.

5.1.2 Legislação sobre invasão no Brasil

Legislações e outros instrumentos legais que mencionam EEIs, mesmo que tangencialmente e não de forma exclusiva, datam da década de 1930, evidenciando preocupações quanto aos perigos oferecidos por espécies exóticas há mais de 80 anos. Primeiramente foram os Decretos Federais nº 24.114 de 1934 e nº 24.548/1934 que regulamentam a importação de espécies vegetais e animais. Posteriormente, a Lei de Crimes Ambientais (Lei Federal nº 9.605/1998) e o Decreto Federal nº 6.514/2008 (que regulamenta a referida Lei, dispendo sobre as infrações e sanções administrativas ao meio ambiente). Estes instrumentos legais definem penalidade para a introdução de espécime animal no País que não seja vinculada a parecer técnico oficial favorável e licença expedida por autoridade competente.

Há também legislação específica sobre a introdução de EEIs em áreas protegidas, como o artigo 31 da Lei Federal nº 9.985/2000 (Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza - SNUC) que menciona: “é proibida a introdução nas UCs de espécies não autóctones”; e o Decreto Federal nº 6.514/2008, que considerar infração esta introdução.

Mais recentemente, temos a Resolução CONABIO (Comissão Nacional de Biodiversidade) nº 06, de 3 de setembro de 2013, que dispõe sobre as Metas Nacionais de Biodiversidade 2011-2020 e inclui 5 objetivos estratégicos, sendo o primeiro: “tratar as causas fundamentais de perda da biodiversidade fazendo com que preocupações com a biodiversidade permeiem o governo”. Esta resolução, juntamente com os documentos internacionais mencionados na seção 5.1.1 leva à resolução CONABIO Nº 7, de 29 de maio de 2018⁶ que dispõe sobre a Estratégia Nacional para EEIs.

A estratégia Nacional para EEIs tem como objetivo orientar a implementação de medidas para gestão e manejo de EEIs, sugerindo medidas para evitar a introdução e a dispersão das mesmas e reduzir o impacto destas sobre a biodiversidade brasileira e serviços ecossistêmicos. As ações prioritárias sugeridas neste documento serão favorecidas até 2030, havendo um Plano de Implementação que deverá ser revisado ao longo deste período.

O Plano de Implementação da estratégia nacional para EEIs baseia-se nos seguintes instrumentos:

- Planos de Prevenção, Erradicação, Controle e Monitoramento de EEIs.
- Sistemas de Detecção Precoce e Resposta Rápida.
- Análise de Risco de introdução, estabelecimento e invasão de EEIs.
- Base de dados- sistema informatizado, integrado, de acesso amplo, contendo os dados de ocorrência e informações sobre EEIs presentes no país.

A coordenação da Estratégia Nacional para EEIs é feita pelo Ministério do Meio Ambiente (MMA), com a cooperação de órgãos ambientais federais (IBAMA, ICMBio) e estaduais; sua execução e implementação envolve instituições de ensino e/ou pesquisa, órgãos governamentais e organizações da sociedade civil no âmbito de suas competências.

Estimulada pelas metas e planos da Estratégia Nacional para EEIs, proponho na próxima seção medidas específicas para o manejo da Lagostim-Vermelho no Brasil. Tais sugestões estão alinhadas às propostas da Estratégia que reafirmam a importância do processo colaborativo entre instituições e atores, para o adensamento e maior circulação de conhecimentos e práticas relacionadas ao manejo e mitigação de impacto das EEIs.

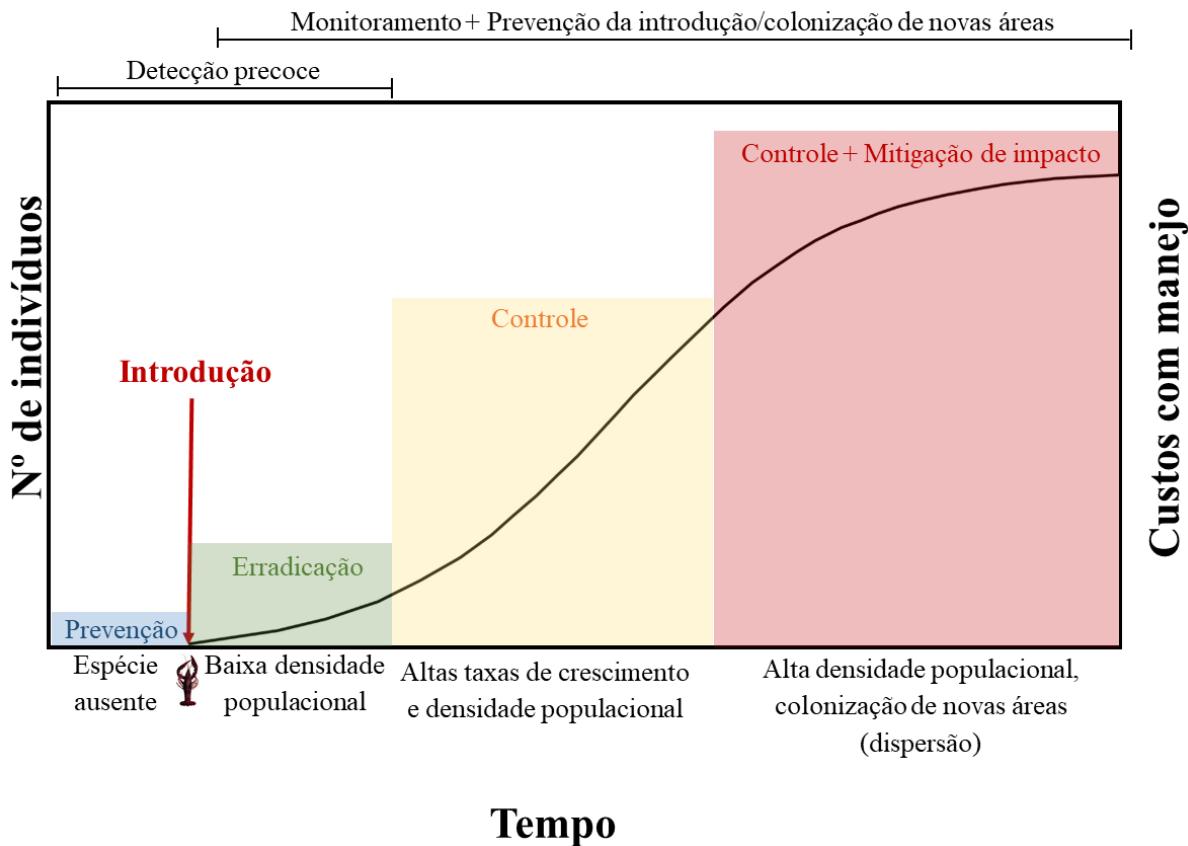
⁶ Ver Anexo II.

5.2 Manejo de espécies invasoras

A definição de estratégias para o manejo de EEIs se baseia principalmente na prevenção, detecção precoce, erradicação ou controle (incluindo contenção) e monitoramento dos processos de bioinvasão (SBSTTA, 2001; WITTENBERG; COCK 2001; SIMBERLOFF *et al.* 2013). A prevenção costuma ser a abordagem menos onerosa economicamente e mais eficiente, e se dá principalmente através de medidas que venham a identificar espécies exóticas com alto potencial de estabelecimento e geração de impacto em um novo ambiente (FLETCHER *et al.*, 2016). Esta identificação se baseia principalmente na utilização de protocolos de análise de risco (PARKER *et al.*, 1999; NENTWIG *et al.*, 2010; MARR *et al.*, 2017). É também através de medidas de prevenção que se busca evitar o aumento da área de ocupação das espécies que já foram introduzidas, tanto prevenindo a soltura ou escape de espécies cultivadas, quanto tentando evitar a dispersão de espécies já estabelecidas na natureza (IUCN, 2000).

A detecção precoce, como o nome sugere, é a identificação de EEIs que ainda estão em uma fase inicial de seu estabelecimento. Ela é crucial, já que na maioria dos processos de invasão esta fase inicial se caracteriza por uma lenta colonização, na qual a densidade e as taxas de crescimento populacional ainda são baixas (Figura 27). A importância de atuação neste estágio se justifica pela rápida expansão da fase posterior (CROOKS; SOULE, 1996) (Figura 27). Desta forma, esforços para a erradicação ou controle de EEIs tendem a ter mais sucesso quando as medidas de manejo são exercidas precocemente. A detecção precoce requer monitoramento sistemático e regular de áreas priorizadas, por agentes treinados e costuma apresentar maiores chances de sucesso quanto seguida por uma resposta rápida (Figura 27).

Figura 27 - Estratégias de manejo em diferentes fases do processo de invasão
Figure 27 – Management strategies along the invasion process



Fonte: Elaboração da autora.

Notas: São evidenciadas as medidas de manejo mais efetivas em cada etapa do processo de invasão e o investimento financeiro associado. A curva exibe a variação populacional das EEIs ao longo do tempo e são destacadas nas barras coloridas as medidas associadas aos seus custos de manejo.

A erradicação de EEIs objetiva a completa remoção dos indivíduos estabelecidos em um determinado local, todavia, extinguir todos os indivíduos de uma população dificilmente é uma tarefa viável (SIMBERLOFF, 2003), de forma que a alternativa mais utilizada costuma ser o controle. O controle de EEIs visa conter o aumento populacional e diminuir as taxas de expansão e colonização de novas áreas, assim como reduzir o impacto gerado (ALLENDORF; LUNDQUIST, 2003; LOCKWOOD *et al.*, 2013).

O monitoramento se dá pelo acompanhamento regular das localidades invadidas, principalmente por métodos de estimativa populacional, a fim de averiguar as taxas de crescimento populacional (BLOSSEY, 1999; CLOUT; WILLIAMS, 2009). O monitoramento é parte fundamental de um plano estratégico pois permite priorizar as populações a ser

manejadas ou, no caso daquelas que já estão sofrendo ações de manejo, verificar a efetividade dos mesmos, identificando sucessos ou insucessos.

Quando um processo de invasão alcança etapas mais avançadas, altas densidades populacionais e a dispersão para novas áreas gera a colonização de outros ambientes, a mitigação de impacto costuma ser uma estratégia recorrente, todavia, esta é uma abordagem concomitante às estratégias de prevenção, erradicação e controle, não substituindo a importância de outras medidas de manejo.

Especificamente em relação ao lagostim invasor *P. clarkii*, ainda antes de direcionar atenção a um plano de manejo, é imprescindível a inclusão desta espécie nas listas de espécies invasoras do Brasil. O reconhecimento do problema é o passo inicial para a tomada das iniciativas. Também se faz necessária a revisão, criação e fortalecimento dos instrumentos normativos, visando o estabelecimento de procedimentos integrados e adequados para o controle efetivo do Lagostim-Vermelho. Ademais, ações de incentivo a pesquisas são de grande relevância pois fornecem subsídios para a tomada de decisões, especialmente pesquisas que venham a contornar deficiências e melhorar a aplicação dos métodos de controle populacional adaptados à realidade brasileira, assim como a criação e o reforço de medidas relacionadas aos mecanismos de comando e controle de responsabilidade do Estado (e.g., fiscalização).

5.3 Sugestões para o manejo da invasão de *Procambarus clarkii* no Brasil

Objetivos

- Conter a expansão territorial e demográfica do Lagostim-Vermelho no Brasil;
- Prevenir novas introduções;
- Detectar focos de introdução precocemente;
- Definir medidas de controle e monitoramento para as populações já estabelecidas;
- Mitigar os impactos negativos sobre a população humana, setores produtivos, meio ambiente e biodiversidade.

5.3.1 Prevenção

Planejamento

Esta etapa está de acordo com as diretrizes de precaução das estratégias nacionais (MMA/CONABIO 7-2018, Anexo II) e globais (CBD, 2001; SCBD 2002) e depende de mobilizações governamentais e seus mecanismos de comando e controle para prevenir a expansão de maneira estratégica e da sensibilização da sociedade para que evitem se tornar agentes de introdução.

Ações

1 Intensificação da fiscalização da venda ilegal

Reforçar a fiscalização de *Petshops*, agropecuárias e sites de venda *online* de animais de estimação e espécies para aquarismo, baseando-se na Portaria Ibama 5-2008 (Anexo I) já que, como demonstrado por Loureiro *et al.* (2015a), a venda ilegal se mantém.

Alguns dos *petshops*, além de vender estes indivíduos, possuem pequenos tanques para a criação clandestina, o que também ocorre entre os aquaristas. O controle dos estoques em cativeiro é decisivo para prevenir contaminação em áreas prioritárias e re-invasão nas áreas manejadas.

2 Sensibilização social

Programas de sensibilização e envolvimento da sociedade com público alvo específico (e.g., criadores, aquaristas, pescadores) são ferramentas de prevenção por vezes subestimadas. Investir em materiais informativos que auxiliem na identificação da espécie e expliquem suas principais características e impacto, contribuirá para o entendimento do público geral, sobre as ameaças oferecidas pela liberação de indivíduos na natureza e informando seu caráter ilegal. A sensibilização da sociedade também poderá auxiliar na redução dos processos de introdução e na diminuição da procura (e consequente oferta) de indivíduos desta espécie para aquarismo.

3 Criação de um repositório digital sobre EEIs no Brasil

Desenvolver um banco de dados facilmente acessível e editável (como nas plataformas colaborativas com revisão por pares), onde as EEIs possam ser cadastradas e novos registros, tanto de novas EEIs como de novas áreas de estabelecimento para EEIs já conhecidas, possam ser incluídos. Este banco de dados conterá não apenas as EEIs e locais de ocorrência, mas os principais vetores de introdução, impactos mais relevantes e data em que cada população foi observada pela primeira vez.

5.3.2 Detecção precoce

Planejamento

Embora o Lagostim-Vermelho possua registros de ocorrência apenas Estado de São Paulo, sabe-se que sua venda ilegal se mantém no resto do país e o reconhecimento de novas áreas de ocorrência são importantes para evitar a ampliação da área de ocupação da espécie, especialmente UC ou áreas de interesse social, econômico e ambiental previamente definidas.

Ações

1 Capacitação de agentes ambientais dentro de Parques Urbanos e Unidades de Conservação

Promover oficinas e disponibilizar material informativo claro e acessível para que os responsáveis pela gerência e manutenção de parques urbanos e UCs (federais, estaduais e municipais) sejam capazes de identificar a espécie, adicioná-las no banco de dados nacional de EEIs no Brasil, e traçar um plano estratégico.

2 Monitoramento de Parques Urbanos e Unidades e Conservação

Manter programas periódicos e sistematizados de monitoramento de fauna e flora dentro de Parques Urbanos e UCs, para que novas EEIs sejam rapidamente identificadas e o manejo seja iniciado. Faz-se importante o estabelecimento de uma rede de colaboradores para o alerta e detecção precoce, assim como a priorização de medidas de resposta rápida, baseadas em ações de erradicação/controle.

5.3.3 Erradicação e controle

Planejamento

No caso de populações já estabelecidas e identificadas, é importante priorizar a erradicação das mesmas, principalmente no caso de locais onde o processo de colonização está em estágios iniciais. Naquelas populações com estabelecimento solidificado e grande densidade populacional de indivíduos, se recomenda o controle periódico da abundância.

Ações

1 Erradicação de focos de invasão em estágios iniciais

Priorizar a remoção total de indivíduos estabelecidos em locais onde a densidade populacional é baixa.

2 Controle periódico das populações estabelecidas

A erradicação de indivíduos em populações com alta densidade populacional é muito trabalhosa, custosa e com baixa taxa de sucesso em função das características da espécie. Nestes casos, deve-se traçar campanhas de remoção intensiva de indivíduos ao longo de no máximo 1 semana. Para evitar o *feedback* populacional mencionado por Loureiro *et al.* (2018), recomenda-se o uso de alta densidade de armadilhas em curto período de tempo. As campanhas de remoção devem ser repetidas a cada 6 meses, não excedendo o intervalo máximo de 12 meses, já que a espécie se reproduz 2 vezes ao ano.

Métodos para eliminação ou controle⁷

1 Remoção mecânica

A captura de indivíduos com o auxílio de aparelho de pesca elétrica, redes, puças e armadilhas (Figura 8) se mostrou bastante eficiente em diversos locais (ALONSO, 2001; MACEDA-VEIGA *et al.*, 2013; RABENI *et al.*, 1997; RODRÍGUEZ *et al.*, 2005). O ideal é a utilização de mais de uma forma de captura, para que sejam coletados animais de diferentes tamanhos e sexo, já que existem algumas diferenças comportamentais entre estes grupos e essas diferenças podem afetar a taxa de captura de acordo com o método empregado.

2 Controle biológico

Apesar de ser uma técnica bastante controversa, o controle biológico pode ser realizado de uma forma mais indireta, que não envolva a introdução de espécies especificamente para o controle do Lagostim-Vermelho, mas o favorecimento da ocupação por espécies que já ocorrem num determinado ambiente. Muitas espécies de aves, como espécies de Martim-pescador e de Garças utilizam estes lagostins como alimento e favorecer sua visitação às áreas invadidas por *P. clarkii* através de chamarizes com a vocalização destas aves e construção de refúgios poderá auxiliar no controle populacional.

5.3.4 Monitoramento

Planejamento

O monitoramento das populações estabelecidas visa investigar a taxa de expansão populacional e permite a priorização das localidades nas quais as ações devem ser direcionadas. Para populações que já estão sofrendo algum tipo de manejo, o monitoramento permite diagnósticos avaliativos sobre a efetividades dos métodos utilizados.

Ações

1 Levantamento de parâmetros populacionais

Realizar de forma periódica, preferivelmente 2 vezes ao ano, estimativas populacionais que levantem dados de abundância e que possam ser usados para avaliar a taxa

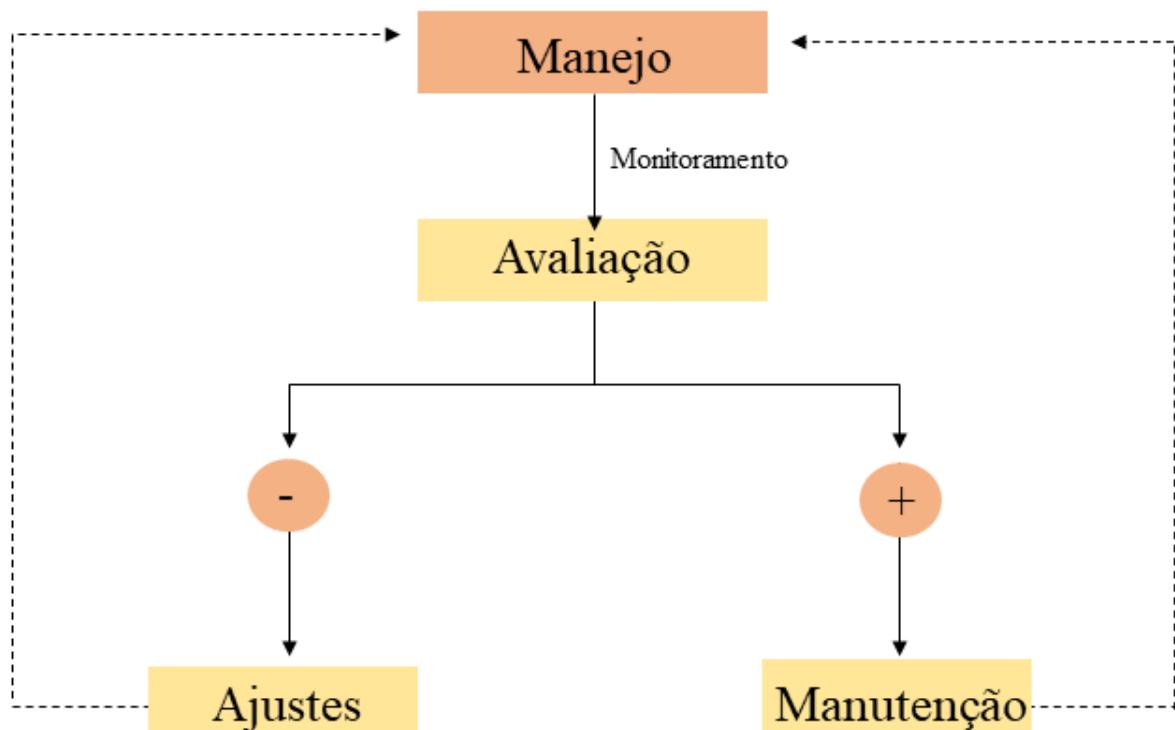
⁷ Métodos de controle químico (e.g. organofosfatos, inseticidas piretróides) não são sugeridos neste plano já que seu sucesso é variável, tende a não ser eficiente para indivíduos adultos (maior tamanho) e principalmente por não serem espécie-específicos, de forma que podem acabar afetando outras espécies cujo objetivo é conservar.

de crescimento populacional. Loureiro *et al.* (2018) sugerem um método acessível e confiável que pode ser utilizado de forma padronizada, permitindo a comparação temporal e espacial dos dados. O acompanhamento das populações permitirá a priorização das áreas para erradicação e controle, assim como a avaliação da efetividade destas medidas.

5.4 Conclusão

As ações e métodos sugeridos devem ser avaliados de acordo com as especificidades de cada local. Além disso, o levantamento comparativo das vantagens, desvantagens e efetividade das ações de manejo devem ser discutidos periodicamente através de reuniões técnicas e seminários, de forma que recomendo uma abordagem baseada no **manejo adaptativo**, onde todas as ações e resultados são registrados e avaliados, a fim de realizar ajustes e adequações gradativas que permitirão uma otimização dos resultados (WALTERS; HOLLING, 1990; PARK, 2004) (Figura 28). Este método valoriza experiências locais e a reformulação do plano de manejo, que jamais deve ser uma ferramenta fixa, estagnada e aplicada de forma literal, mas adequado às especificidades de cada ambiente. Neste contexto, é interessante criar uma rede de contato entre os agentes envolvidos para favorecer a troca de experiências e aprimorar a gestão do processo e eficácia do controle.

Figura 28 - Representação esquemática do manejo adaptativo
Figure 28 – Adaptative management



Fonte: Elaboração da autora.

Notas: Ações de manejo são monitoradas e avaliadas, e os resultados negativos devem ser ajustados, adequando ou criando novas ações e resultados positivos se mantém.

Os esforços para manejo do Lagostim-Vermelho, assim como de qualquer outra EEI, devem implementado por diversos setores e atores, visando a continuidade das ações propostas, o que aumentará suas chances de sucesso. Finalmente, é importante salientar que independente da EEI em questão e qual a estratégia de manejo estabelecida, as dimensões humanas (e.i. políticas, legais, culturais e filosóficas) devem ser conhecidas e levadas em consideração (WITTENBERG; COCK 2001).

Considerações finais

No **Capítulo I** busquei demonstrar a importância da biodiversidade brasileira e os motivos para sua conservação; trouxe um panorama sintético e acessível sobre o processo de bioinvasão, suas etapas e, por fim, reuni as principais informações a respeito da EEI *P. clarkii*, as características bioecológicas que o tornam um invasor tão bem-sucedido e os principais impactos associados ao estabelecimento desta espécie no resto do mundo. É também no Capítulo I que as poucas informações referentes ao *status* de invasão desta espécie no Brasil são sumarizados.

No **Capítulo II**, uma das populações estabelecidas no Brasil, em uma UC de Mata Atlântica, é utilizada como modelo para testar e aperfeiçoar uma metodologia para a estimativa da abundância populacional de *P. clarkii*. Procurei priorizar um método rápido, de baixa complexidade e barato, que pudesse ser aplicado por pessoas com diferentes orçamentos, habilidades e inserções sociais, de forma a facilitar sua utilização. O emprego de um método de estimativa padrão permite a comparação do processo de invasão de uma dada população ao longo do tempo, assim como a comparação entre diferentes populações. Uma abordagem comparativa é imprescindível para a priorização das localidades a ser manejadas.

Utilizando o método de estimativa definido e aperfeiçoado, verificou-se a influência da sazonalidade na abundância populacional. A expectativa era encontrar alguma estação em que a densidade populacional pudesse estar mais reduzida ou em que as taxas de crescimento populacional fossem mais baixas, para então propor este período de “instabilidade populacional natural” como o melhor momento para se investir em medidas de controle. Ao final do trabalho, percebi que não há um momento em que a população passe por fases de crescimento populacional mais lento e, que na população estudada, a abundância populacional segue aumentando e com uma taxa de crescimento considerável.

Por fim, o Capítulo II inclui o resultado de um teste de controle populacional baseado na remoção extensiva de indivíduos, feita periodicamente, ao longo de um ano. Os resultados demonstram que a retirada lenta e contínua de indivíduos de uma população acaba gerando um *feedback* populacional onde os indivíduos parecem perceber a redução da densidade e acabam investindo mais fortemente em reprodução, o que acabou aumentando a abundância e a taxa de crescimento populacional. Este experimento indica que **a remoção extensiva não é uma boa estratégia para o controle das populações invasoras desta espécie e que talvez, a melhor abordagem seja o investimento em remoção intensiva, em que a captura de**

grandes números de animais em um curto período de tempo é priorizada. Outra questão levantada pelos resultados negativos do experimento de remoção, que não pode deixar de ser mencionada, é a importância de testar as medidas de controle populacional antes de sua aplicação em larga escala, uma vez que os resultados podem ser opostos aos objetivos iniciais, como neste caso.

O **Capítulo III** investigou a ecologia alimentar de *P. clarkii*. A mesma população utilizada como modelo no Capítulo II foi selecionada para esta análise. Todas as populações estabelecidas no Brasil estão em áreas dentro do domínio da Mata Atlântica. Não são poucos os estudos de dieta desta espécie em comunidades invadidas de outros países. Entretanto, considerando sua comprovada plasticidade e a inexistência de estudos dentro de áreas de Mata Atlântica, percebemos a importância da produção de dados específicos a este ecossistema. O estudo da ecologia alimentar é especialmente relevante, já que um dos principais impactos oferecidos pelo Lagostim-Vermelho às espécies nativas está associado à alta pressão de predação que ele oferece, ameaçando não apenas as espécies diretamente consumidas, mas também aquelas que passam a compartilhar seus recursos alimentares.

Ademais, verificar a dinâmica alimentar também almejava investigar a existência de algum período em que a espécie poderia enfrentar obstáculos na obtenção de recursos, tornando-se mais vulnerável e, assim, otimizando estratégias de controle populacional. Assim como no capítulo II, não houve nenhuma estação do ano em que a espécie passasse por privações alimentares, nem mais nem menos acentuadas. Novamente, não foi possível identificar um período de instabilidade ecológica. ***Procambarus clarkii* mostrou-se uma espécie notavelmente oportunista, capaz de modificar sua dieta de acordo com a oferta e acessibilidade aos recursos.**

No **Capítulo IV**, avaliou-se a variabilidade genética do gene COI em populações brasileiras e de áreas nativas, a fim de compreender os substratos genéticos que poderiam estar associados a uma espécie com tamanha adaptabilidade e plasticidade ecológica, assim como identificar as possíveis populações originárias das quais os indivíduos introduzidos no Brasil seriam provenientes. **A variabilidade genética das populações brasileiras e nativas mostrou-se reduzida, sendo menor nas populações brasileiras do que nas nativas.** Algumas das populações brasileiras puderam ser associadas a populações nativas, o que permitiu inferir suas origens. De outro lado, algumas populações parecem ter sido resultado da introdução de indivíduos que já estavam estabelecidos no Brasil. Outras, ainda, não puderam ser relacionadas com nenhuma das populações estudadas, e é provável que suas

origens tenham raízes em outras populações invasoras do mundo, que não foram contempladas neste estudo e que devem ser investigadas futuramente.

O **Capítulo V** sumariza o contexto legal (nacional e internacional) que norteia a postura do Brasil em relação ao problema das EEI e que orienta as ações necessárias às práticas de manejo do Lagostim-Vermelho. Esboçado esse panorama geral, trago uma proposta de ações para o manejo do Lagostim-Vermelho no Brasil. Estas ações contemplam medidas de prevenção de novas introduções e de controle e monitoramento das populações já estabelecidas, de acordo com as normativas internacionais e com os ordenamentos jurídicos construídos na institucionalidade brasileira.

Convém mencionar que a maior parte das informações referentes ao estabelecimento desta espécie no Brasil são oriundas de minha dissertação de mestrado (e artigos publicados a partir desta), quando iniciei a investigação do processo de invasão desta espécie em nosso país.

Esta temática está presente em minhas pesquisas desde 2011 e a experiência proveniente desse processo extrapola aquilo que venho publicando à comunidade científica em revistas especializadas. Creio que a maioria dos leitores sabe que nem todo o nosso conhecimento e experiência cabem em um manuscrito organizado em introdução, materiais e métodos e discussão.

Desta forma, o plano de manejo proposto, se baseia em muito mais do que apenas na bibliografia disponível, mas na experiência e conhecimento prático e teórico que construí ao longo destes 7 anos, onde não apenas realizei trabalhos de campo, coletas de indivíduos, análises laboratoriais, mas também lidei com gestores de parques e UCs, com membros de diferentes órgãos governamentais, pescadores, aquaristas e cidadãos que cultivam o Lagostim-Vermelho em seus açudes privados. Desta experiência, pude perceber a importância dos fatores humanos, sociais, políticos e econômicos nos processos de invasão. Estes fatores já são amplamente mencionados na bibliografia, mas experienciá-los modificou minha visão sobre a translocação e introdução de espécies, que passei a perceber como um processo que ocorre em consonância com outros elementos que vinculam fenômenos biológicos e sociais.

A introdução e o estabelecimento do Lagostim-Vermelho no Brasil é resultado da interação entre forças econômicas e culturais que continuam atuando, independentemente da proibição legal existente. Esse processo precisa ser melhor explorado, para que se possa compreender o panorama histórico associado aos primeiros indivíduos introduzidos no Brasil. Não conseguimos atualmente responder questões primordiais que nos levariam à adoção de políticas mais sofisticadas e melhor informadas de manejo e controle das populações

invasoras. Qual a primeira população estabelecida? Qual sua data de introdução? Quais os agentes socioeconômicos envolvidos nesse processo?

Também inexistem estudos experimentais sobre o impacto deste lagostim nos ambientes brasileiros invadidos, assim como outros aspectos biológicos, tais como investigação do(s) período (s) reprodutivo(s), longevidade, idade (e tamanho) dos indivíduos que se tornam maduros sexualmente, fecundidade, entre outros. Isso abre uma nova agenda de pesquisas que pode articular diversos campos do conhecimento.

Apesar da grande importância da invasão biológica para a conservação da natureza, especialmente em um país com tamanha biodiversidade como o Brasil, esta temática é pouco explorada e priorizada. Os relatórios de EEIs são poucos, desarticulados e desatualizados; as ferramentas políticas e legais, assim como medidas para prevenção, controle e monitoramento são escassas. O caso mais bem-sucedido de manejo de EEI no Brasil é o do Javali (*Sus scrofa*, Linnaeus, 1758), para o qual existem ordenamentos jurídicos, um plano de manejo específico e destinação de verbas.

As experiências de manejo do Javali demonstram a importância da articulação entre as ferramentas supracitadas, o conhecimento científico e a ação. Ainda, elas podem orientar diretrizes para a adequação de planos de manejo de outras espécies como no caso do Lagostim-Vermelho, especialmente por seu caráter integrador entre atores envolvidos. Se atualmente as pesquisas científicas produzidas na esfera acadêmica possuem baixa densidade de articulação com outros interlocutores envolvidos no manejo de EEIs, experiências anteriores podem servir como modelos que estimulem a circulação do conhecimento científico para espaços não acadêmicos.

Como mencionado ao longo desta tese, o alto potencial de invasão de *P. clarkii* no Brasil, evidenciado por Palaoro *et al.* (2013) e Loureiro *et al.* (2015a), associado à existência de inúmeras lacunas referentes à biologia da espécie adaptada às condições brasileiras e a fraca integração de arcabouços políticos, legais e científicos referentes especificamente à invasão deste lagostim em território nacional, leva a um cenário de descaso que precisa ser urgentemente modificado. Buscando atuar nesta direção que no Capítulo V é proposto um plano de manejo para lidar com a invasão do Lagostim-Vermelho no Brasil. Esta, se configura como uma tentativa de trazer mais atenção ao assunto e encerra esta tese que buscou contribuir para a mudança do panorama atual.

Perspectivas futuras

Esta tese contribui com informações relevantes referente ao estabelecimento do lagostim invasor *P. clarkii* no Brasil, os possíveis impactos gerados aos ecossistemas invadidos e a definição de táticas de manejo e controle adequadas. Todavia, muitas lacunas ainda precisam ser preenchidas e futuramente pretendo aprofundar os seguintes temas:

- Investigação e quantificação dos impactos gerados pelo estabelecimento da espécie utilizando modelagem ecológica.
- Verificação da capacidade de locomoção, padrões de movimento e atividade dos animais, o que permitirá a modelagem da capacidade de dispersão ativa dos mesmos.
- Análise da conectividade ambiental existente entre os ambientes invadidos e novos locais favoráveis ao estabelecimento da espécie.
- Aprofundamento das análises moleculares através da utilização de microssatélites.
- Verificação dos limites de tolerância ecológica da espécie, por exemplo: pH, anóxia, poluição entre outros.
- Verificação do período reprodutivo e fecundidade.
- Investigar a viabilidade de métodos de controle que interferiram na reprodução como a liberação de feromônios que dificultam o acasalamento ou liberação de machos estéreis.
- Testar a efetividade da detectabilidade de locais colonizados a partir do uso de DNA ambiental (eDNA).

Referências

- ABELL, R. Conservation Biology for the Biodiversity Crisis: a Freshwater Follow-up. *Conservation Biology*, v. 16, n. 5, p. 1435–1437, 2002.
- ABILHOA, V. *et al.* Fishes of the Atlantic Rain Forest Streams: Ecological Patterns and Conservation. *Changing Diversity in Changing Environment*, p. 259–282, 2011.
- ABRAHAMSSON, S. A. A. Dynamics of an Isolated Population of the Crayfish *Astacus astacus* Linné. *Oikos*, v. 17, n. 1, p. 96, 1966.
- ADAO, H.; MARQUES, J. C. Population Biology of the Red Swamp Crayfish *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) in Southern Portugal. *Crustaceana*, v. 65, n. 3, p. 336–345, 1993.
- ALCORLO, P.; GEIGER, W.; OTERO, M. Feeding Preferences and Food Selection of the Red Swamp Crayfish, *Procambarus clarkii*, in Habitats Differing in Food Item Diversity. *Crustaceana*, v. 77, n. 4, p. 435–453, 2004.
- ALCORLO, P.; GEIGER, W.; OTERO, M. Reproductive biology and life cycle of the invasive crayfish *Procambarus clarkii* (Crustacea: Decapoda) in diverse aquatic habitats of South-Western Spain: implications for population control. *Fundamental and Applied Limnology/Archiv für Hydrobiologie*, v. 173, n. 3, p. 197–212, 2008.
- ALLENDORF, F. W. F.; LUNDQUIST, L. L. Introduction: population biology, evolution, and control of invasive species. *Conservation Biology*, v. 17, n. 1, p. 24–30, 2003.
- ALMEIDA, E. *et al.* Antipredator responses of two anurans towards native and exotic predators. *Amphibia-Reptilia*, v. 32, n. 3, p. 341–350, 2011.
- ANASTÁCIO, P. M. *et al.* Population dynamics of the invasive crayfish (*Procambarus clarkii* Girard, 1852) at two marshes with differing hydroperiods. *Annales de Limnologie-International Journal of Limnology*, v. 45, p. 247–256, 2009.
- ANASTÁCIO, P. M.; MARQUES, J. C. Crayfish, *Procambarus clarkii*, effects on initial stages of rice growth in the lower Mondego River valley (Portugal). *Freshwater crayfish*, v. 11, p. 608–617, 1997.
- ANASTÁCIO, P. M. *et al.* Ontogenetic shifts in predatory roles involving two invasive species. *Limnologica*, v. 41, n. 3, p. 228–234, 2011.
- ANGELET, D. G. *et al.* The influence of *Procambarus clarkii* (Cambaridae, Decapoda) on water quality and sediment characteristics in a Spanish floodplain wetland. *Hydrobiologia*, v. 464, p. 89–98, 2001.
- ANICHINI, M.; FROMMOLT, K. H.; LEHMANN, G. U. C. To compete or not to compete: bushcricket song plasticity reveals male body condition and rival distance. *Animal Behaviour*, v. 142, p. 59–68, 2018.
- APPLETON, C. C.; HOFKIN, B. V.; BAIJNATH, A. Macro-invertebrate predators of freshwater pulmonate snails in Africa, with particular reference to *Appasus grassei*

(Heteroptera) and *Procambarus clarkii* (Decapoda). *African Journal of Aquatic Science*, v. 29, n. 2, p. 185–193, 2004.

AQUILONI, L. et al. The North American crayfish *Procambarus clarkii* is the carrier of the oomycete *Aphanomyces astaci* in Italy. *Biological Invasions*, v. 13, n. 2, p. 359–367, 2011.

AQUILONI, L.; GHERARDI, F. Extended Mother–Offspring Relationships in Crayfish: The Return Behaviour of Juvenile *Procambarus clarkii*. *Ethology*, v. 114, n. 10, p. 946–954, 2008.

ARAÚJO, M. S. et al. Nested diets: a novel pattern of individual-level resource use. *Oikos*, v. 119, n. 1, p. 81–88, 2009.

ARRIBAS, R.; DÍAZ-PANIAGUA, C.; GOMEZ-MESTRE, I. Ecological consequences of amphibian larvae and their native and alien predators on the community structure of temporary ponds. *Freshwater Biology*, v. 59, n. 9, p. 1996–2008, 2014.

AVAULT JR, J. W.; ROMAIRE, R. P.; MILTNER, M. R. Feeds and forages for red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*: 15 years research at Louisiana State University reviewed. *Freshwater Crayfish*, v. 5, p. 362–369, 1983.

BAKER, H. G. Characteristics and modes of origins of weeds. In: BAKER, H. G. (Org.). *The genetics of colonizing species: proceedings of the first International Union of Biological Sciences Symposia on General Biology*. Union internationale des sciences biologiques; Symposium on general biology. New York: Academic Press, 1965. p. 147–172.

BALLARD, J. W. O.; WHITLOCK, M. C. The incomplete natural history of mitochondria. *Molecular Ecology*, v. 13, n. 4, p. 729–744, 2004.

BANCI, K. R. S. et al. Predation of *Rhinella ornata* (Anura, Bufonidae) by the alien crayfish (Crustacea, Astacidae) *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) in São Paulo, Brazil. *Herpetology Notes*, v. 6, n. 1, p. 339–341, 2013.

BANDELT, H. J.; FORSTER, P.; ROHL, A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, v. 16, n. 1, p. 37–48, 1999.

BARBARESI, S. et al. Genetics and invasion biology in fresh waters: a pilot study of *Procambarus clarkii* in Europe. *Biological invaders in inland waters: Profiles, distribution, and threats*. [S.l.]: Springer, 2007. p. 381–400.

BARBARESI, S.; GHERARDI, F. The invasion of the alien crayfish *Procambarus clarkii* in Europe, with particular reference to Italy. *Biological invasions*, v. 2, n. 3, p. 259–264, 2000.

BARTRAM, J.; BALLANCE, R. *Water quality monitoring: a practical guide to the design and implementation of freshwater quality studies and monitoring programmes*. 1st ed ed. London ; New York: E & FN Spon, 1996.

BEISEL, J. N. The elusive model of a biological invasion process: time to take differences among aquatic and terrestrial ecosystems into account? *Ethology Ecology & Evolution*, v. 13, n. 2, p. 193–195, 2001.

BELLARD, C.; CASSEY, P.; BLACKBURN, T. M. Alien species as a driver of recent extinctions. *Biology Letters*, v. 12, n. 4, 2016.

- BLACKWELL, G. L. Another World: The composition and consequences of the Introduced Mammal fauna of New Zealand. *Australian Zoologist*, v. 33, n. 1, p. 108–118, 2005.
- BLOSSEY, B. Before, During and After: The Need for Long-term Monitoring in Invasive Plant Species Management. *Biological Invasions*, v. 1, n. 2, p. 301–311, 1999.
- BOCK, C. E.; RICKLEFS, R. E. Range size and local abundance of some North American songbirds: a positive correlation. *The American Naturalist*, v. 122, n. 2, p. 295–299, 1983.
- BOETS, P. et al. Occurrence of the invasive crayfish *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) in Belgium (Crustacea: Cambaridae). *Belgian Journal of Zoology*, v. 139, n. 2, p. 173–176, 2009.
- BOZELLI, R. L. Zooplankton community density in relation to water level fluctuations and inorganic turbidity in an Amazonian lake," Lago Batata", state of Para, Brazil. *Amazoniana. Kiel*, v. 13, n. 1, p. 17–32, 1994.
- BRANCO, J. O.; VERANI, J. R. Dinâmica da alimentação natural de *Callinectes danae* Smith (Decapoda, Portunidae) na Lagoa da Conceição, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 14, n. 4, p. 1003–1018, 1997.
- BRETT, M.; MÜLLER-NAVARRA, D. The role of highly unsaturated fatty acids in aquatic foodweb processes. *Freshwater Biology*, v. 38, n. 3, p. 483–499, 1997.
- BROWN, J. H. On the Relationship between Abundance and Distribution of Species. *The American Naturalist*, v. 124, n. 2, p. 255–279, 1984.
- BUENO, S. L. DE S.; SHIMIZU, R. M.; ROCHA, S. S. DA. Estimating the Population Size of *Aegla Franca* (Decapoda: Anomura: Aeglidae) by Mark-Recapture Technique from an Isolated Section of Barro Preto Stream, County of Claraval, State of Minas Gerais, Southeastern Brazil. *Journal of Crustacean Biology*, v. 27, n. 4, p. 553–559, 2007.
- BULLER, N. Crayfish Plague. Australia and New Zealand Standard Diagnostic Procedure. p. 1–21, 2008.
- BUSACK, C. A. Electrophoretic variation in the red swamp (*Procambarus clarkii*) and white river crayfish (*P. acutus*) (Decapoda: Cambaridae). *Aquaculture*, v. 69, n. 3–4, p. 211–226, 1988.
- BYERS, J. E. et al. Directing Research to Reduce the Impacts of Nonindigenous Species. *Conservation Biology*, v. 16, n. 3, p. 630–640, 2002.
- CADOTTE, M. W.; MCMAHON, S. M.; FUKAMI, T. *Conceptual ecology and invasion biology: reciprocal approaches to nature*. Dordrecht: Springer, 2006. (Invading nature, v. 1).
- CAMMÀ, C. et al. Confirmation of crayfish plague in Italy: detection of *Aphanomyces astaci* in white clawed crayfish. *Diseases of Aquatic Organisms*, v. 89, n. 3, p. 265–268, 2010.
- CANNICCI, S. et al. Natural Diet and Feeding Habits of *Thalamita crenata* (Decapoda: Portunidae). *Journal of Crustacean Biology*, v. 16, n. 4, p. 678–683, 1996.

CANO, E.; OCETE, M. E. Population biology of red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) in the Guadalquivir River Marshes, Spain. *Crustaceana*, v. 70, n. 5, p. 553–561, 1997.

CAPELLI, G. M. Distribution, life history, and ecology of crayfish in northern Wisconsin, with emphasis on *Orconectes propinquus* (Girard). *Ph.D. thesis, University of Wisconsin*, 1977.

CAPURRO, M. et al. The signal crayfish, *Pacifastacus leniusculus* (Dana, 1852)[Crustacea: Decapoda: Astacidae], in the Brugneto Lake (Liguria, NW Italy). The beginning of the invasion of the river Po watershed. *Aquatic Invasions*, v. 2, n. 1, p. 17–24, 2007.

CARVALHO, F. et al. Direct and indirect effects of an invasive omnivore crayfish on leaf litter decomposition. *Science of The Total Environment*, v. 541, p. 714–720, 2016.

CASTRO, R. M.; MENEZES, N. A. Estudo diagnóstico da diversidade de peixes do estado de São Paulo. In: JOLY, C. A.; BICUDO, C. E. M. (Org.). *Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil*. São Paulo: FAPESP, 1998. v. 6. p. 3–13.

CATFORD, J. A.; JANSSON, R.; NILSSON, C. Reducing redundancy in invasion ecology by integrating hypotheses into a single theoretical framework. *Diversity and Distributions*, v. 15, n. 1, p. 22–40, 2009.

CDB. *Aichi Biodiversity Targets*. Disponível em: <<https://www.cbd.int/sp/targets/default.shtml>>. Acesso em: 3 out. 2018.

CDB. *Invasive alien species: comprehensive review on the efficiency and efficacy of existing measures for their prevention, early detection, eradication and control*. Montreal: Subsidiary Body on Scientific, Technical and Technological Advice (SBSTTA) of Convention on Biological Diversity (CBD) of United Nations Environmental Program (UNEP), 2001.

CHORNESKY, E. A.; RANDALL, J. M. The Threat of Invasive Alien Species to Biological Diversity: Setting a Future Course. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, v. 90, n. 1, p. 67–76, 2003.

CHUCHOLL, C. Population ecology of an alien “warm water” crayfish (*Procambarus clarkii*) in a new cold habitat. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, n. 401, p. 29, 2011.

CHUCHOLL, C. Feeding ecology and ecological impact of an alien ‘warm-water’ omnivore in cold lakes. *Limnologica - Ecology and Management of Inland Waters*, v. 43, n. 4, p. 219–229, 2013.

CHUMCHAL, M. M.; NOWLIN, W. H.; DRENNER, R. W. Biomass-dependent effects of common carp on water quality in shallow ponds. *Hydrobiologia*, v. 545, n. 1, p. 271–277, 2005.

CLARKE, K. R. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Austral Ecology*, v. 18, n. 1, p. 117–143, 1993.

- CLOUT, M. N.; WILLIAMS, P. A. *Invasive species management: a handbook of principles and techniques*. Oxford; New York: Oxford University Press, 2009. (Techniques in ecology and conservation series).
- CLOUT, M. N.; RUSSELL, J. C. The invasion ecology of mammals: a global perspective. *Wildlife Research*, v. 35, n. 3, p. 180–184, 2008.
- COHEN, F. et al. Tamaño poblacional de *Aegla paulensis* (Decapoda: Anomura: Aeglidae). *Latin american journal of aquatic research*, v. 41, n. 4, p. 746–752, 2013.
- COLAUTTI, R. I.; MACISAAC, H. I. A neutral terminology to define “invasive” species. *Diversity and Distributions*, v. 10, n. 2, p. 135–141, 2004.
- COLLINS, P. A.; PAGGI, J. C. Feeding ecology of *Macrobrachium borelli* (Nobili) (Decapoda: Palaemonidae) in the flood valley of the River Paraná, Argentina. *Hydrobiologia*, v. 362, n. 1–3, p. 21–30, 1997.
- CONN, H. J. *Biological stains: a handbook on the nature and uses of the dyes employed in the biological laboratory*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1961.
- CORADIN, L. *Espécies exóticas invasoras situação brasileira*. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, 2006.
- CORREIA, A. M.; ANASTÁCIO, P. M. Shifts in aquatic macroinvertebrate biodiversity associated with the presence and size of an alien crayfish. *Ecological Research*, v. 23, n. 4, p. 729–734, 2008.
- CORREIA, A. M. Niche breadth and trophic diversity: feeding behaviour of the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) towards environmental availability of aquatic macroinvertebrates in a rice field (Portugal). *Acta Oecologica*, v. 23, n. 6, p. 421–429, 2002.
- CORREIA, A. M.; FERREIRA, Ó. Burrowing Behavior of the Introduced Red Swamp Crayfish *Procambarus clarkii* (Decapoda: Cambaridae) in Portugal. *Journal of Crustacean Biology*, v. 15, n. 2, p. 248–257, 1995.
- COSTA, C. C.; IDE, S.; SIMONKA, C. E. *Insetos Imaturos: metamorfose e identificação*. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2006.
- CROOKS, J. Habitat alteration and community-level effects of an exotic mussel, *Musculista senhousia*. *Marine Ecology Progress Series*, v. 162, p. 137–152, 1998.
- CROOKS, J. A.; SOULÉ, M. E.; SANDLUND, O. T. Lag times in population explosions of invasive species: causes and implications. *Invasive species and biodiversity management*, p. 103–125, 1999.
- CROSBY, A. W. *Imperialismo ecológico: a expansão biológica da Europa, 900-1900*. São Paulo: Companhia das Letras, 2011.
- CRUZ, M. J.; REBELO, R. Colonization of freshwater habitats by an introduced crayfish, *Procambarus clarkii*, in Southwest Iberian Peninsula. *Hydrobiologia*, v. 575, n. 1, p. 191–201, 2007.

- CRUZ, M. J.; REBELO, R.; G. CRESPO, E. Effects of an introduced crayfish, *Procambarus clarkii*, on the distribution of south-western Iberian amphibians in their breeding habitats. *Ecography*, v. 29, n. 3, p. 329–338, 2006.
- CRUZ, M. J.; REBELO, R. Vulnerability of Southwest Iberian amphibians to an introduced crayfish, *Procambarus clarkii*. *Amphibia-Reptilia*, v. 26, n. 3, p. 293–303, 2005.
- DA FONSECA, G. A. B. The vanishing Brazilian Atlantic forest. *Biological Conservation*, v. 34, n. 1, p. 17–34, 1985.
- DA ROSA, C. A. *et al.* Assessing the risk of invasion of species in the pet trade in Brazil. *Perspectives in Ecology and Conservation*, v. 16, n. 1, p. 38–42, 2018.
- D'ABRAMO, L. R.; ROBINSON, E. H. Nutrition of crayfish. *Aquatic Science*, v. 1, n. 4, p. 711–728, 1989.
- DAVIS, M. A. Biotic Globalization: Does Competition from Introduced Species Threaten Biodiversity? *BioScience*, v. 53, n. 5, p. 481–489, 2003.
- DAVIS, M. A. *Invasion biology*. Oxford ; New York: Oxford University Press, 2009.
- DE LIMA, R. A. F. *et al.* How much do we know about the endangered Atlantic Forest? Reviewing nearly 70 years of information on tree community surveys. *Biodiversity and Conservation*, v. 24, n. 9, p. 2135–2148, 2015.
- DEUS, C. P.; PETRERE-JUNIOR, M. Seasonal diet shifts of seven fish species in an Atlantic rainforest stream in Southeastern Brazil. *Brazilian journal of biology (Revista brasileira de biologia)*, v. 63, n. 4, p. 579–88, 2003.
- DEVIN, S.; BEISEL, J.-N. Biological and ecological characteristics of invasive species: a gammarid study. *Biological Invasions*, v. 9, n. 1, p. 13–24, 2006.
- DIAMOND, J. *Armas, germes e aço: os destinos das sociedades humanas*. Rio de Janeiro: Record, 2017.
- DIJKSTRA, K. D. B.; MONAGHAN, M. T.; PAULS, S. U. Freshwater Biodiversity and Aquatic Insect Diversification. *Annual Review of Entomology*, v. 59, n. 1, p. 143–163, 2014.
- DOHERTY, T. S. *et al.* Invasive predators and global biodiversity loss. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 113, n. 40, p. 11261 LP – 11265, 2016.
- DÖRN, N. J.; WOJDAK, J. M. The role of omnivorous crayfish in littoral communities. *Oecologia*, v. 140, n. 1, p. 150–159, 2004.
- DÖRR, A. J. M. *et al.* Biology of *Procambarus clarkii* (GIRARD, 1852) in lake trasimeno. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, n. 380–381, p. 1155–1168, 2006.
- DUDGEON, D. *et al.* Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological Reviews*, v. 81, n. 02, p. 163, 2006.
- ELTON, C. S. *The Ecology of Invasions by Animals and Plants*. Chicago: University of Chicago Press, 2000.

- EPANCHIN, P. N.; KNAPP, R. A.; LAWLER, S. P. Nonnative trout impact an alpine-nesting bird by altering aquatic-insect subsidies. *Ecology*, v. 91, n. 8, p. 2406–15, 2010.
- FICETOLA, G. F. *et al.* Early assessment of the impact of alien species: differential consequences of an invasive crayfish on adult and larval amphibians. *Diversity and Distributions*, v. 17, n. 6, p. 1141–1151, 2011.
- FIDALGO, M. L.; CARVALHO, A. P.; SANTOS, P. Population dynamics of the red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) from the Aveiro region, Portugal (Decapoda, Cambaridae). *Crustaceana*, v. 74, n. 4, p. 369–375, 2001.
- FLECKER, A. S.; TOWNSEND, C. R. Community-Wide Consequences of Trout Introduction in New Zealand Streams. *Ecological Applications*, v. 4, n. 4, p. 798–807, 1994.
- FLETCHER, D. H. *et al.* Predicting global invasion risks: a management tool to prevent future introductions. *Scientific Reports*, v. 6, p. 26316, 2016.
- FOLMER, O. *et al.* DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular marine biology and biotechnology*, v. 3, n. 5, p. 294–9, 1994.
- FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge: Cambridge University Press, 2010.
- FREELAND, W. J. Populations of cane toad *Bufo marinus* in relation to time since colonization. *Australian Wildlife Research*, v. 13, n. 2, p. 321–330, 1986.
- GASTON, K. J.; HE, F. The distribution of species range size: a stochastic process. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 269, n. 1495, p. 1079–1086, 2002.
- GASTON, KEVIN J.; BLACKBURN, T. M.; LAWTON, J. H. Interspecific Abundance-Range Size Relationships: An Appraisal of Mechanisms. *Journal of Animal Ecology*, v. 66, n. 4, p. 579–601, 1997.
- GEIGER, W. *et al.* Impact of an introduced Crustacean on the trophic webs of Mediterranean wetlands. *Biological Invasions*, v. 7, n. 1, p. 49–73, 2005.
- GHERARDI, F.; PANOV, V. E. *Procambarus clarkii* (Girard), red swamp crayfish/crawfish (Cambaridae, Crustacea). *Handbook of alien species in Europe*, v. 1, p. 81–92, 2009.
- GHERARDI, F. Behaviour. In: HOLDICH, DAVID MALCOLM (Org.). *Biology of freshwater crayfish*. Oxford: Blackwell Science, 2002. p. 258–290.
- GHERARDI, F. Crayfish invading Europe: the case study of *Procambarus clarkii*. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, v. 39, n. 3, p. 175–191, 2006.
- GHERARDI, F. *et al.* Managing invasive crayfish: is there a hope? *Aquatic Sciences*, v. 73, n. 2, p. 185–200, 2011.
- GHERARDI, FRANCESCA; ACQUISTAPACE, P. Invasive crayfish in Europe: The impact of *Procambarus clarkii* on the littoral community of a Mediterranean lake. *Freshwater Biology*, v. 52, n. 7, p. 1249–1259, 2007.

- GIRARD, C. A revision of the North American *Astaci*, with observation on their habits and geographic distribution. *Proceeding of Academy of Natural Science of Philadelphia*, v. 6, p. 87–91, 1852.
- GISSI, C.; IANNELLI, F.; PESOLE, G. Evolution of the mitochondrial genome of Metazoa as exemplified by comparison of congeneric species. *Heredity*, v. 101, n. 4, p. 301, 2008.
- GODDARD, J. S. Food and feeding. In: HOLDICH, D. M.; LOWERY, R. S. (Org.). *Freshwater Crayfish: Biology, Management, and Exploitation*. London: Croom Helm, 1988. p. 145–166.
- GOMIERO, L. M.; BRAGA, F. M. S. Reproduction of Pirapitinga do Sul (*Brycon opalinus* Cuvier, 1819) in the Parque Estadual da Serra do Mar-Núcleo Santa Virgínia, São Paulo, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, v. 67, n. 3, p. 541–549, 2007.
- GOZLAN, R. E. et al. Pan-continental invasion of *Pseudorasbora parva*: towards a better understanding of freshwater fish invasions. *Fish and Fisheries*, v. 11, n. 4, p. 315–340, 2010.
- GRIFFEN, B. D. et al. The role of foraging in the success of invasive Asian shore crabs in New England. *Biological Invasions*, v. 14, n. 12, p. 2545–2558, 2012.
- GUIASU, R. C.; DUNHAM, D. W. Initiation and Outcome of Agonistic Contests in Male Form I *Cambarus robustus* Girard, 1852 Crayfish (Decapoda, Cambaridae). *Crustaceana*, v. 70, n. 4, p. 480–496, 1997.
- GUIASU, R. C.; DUNHAM, D. W. Inter-Form Agonistic Contests in Male Crayfishes, *Cambarus robustus* (Decapoda, Cambaridae). *Invertebrate Biology*, v. 117, n. 2, p. 144, 1998.
- GUTIÉRREZ-YURRITA, P. J. et al. Diet of the Red Swamp Crayfish *Procambarus clarkii* in Natural Ecosystems of the Doñana National Park Temporary Fresh-water Marsh (Spain). *Journal of Crustacean Biology*, v. 18, n. 1, p. 120–127, 1998.
- GUTIÉRREZ-YURRITA, P. J.; MONTES, C. Bioenergetics and phenology of reproduction of the introduced red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*, in Donana National Park, Spain, and implications for species management. *Freshwater Biology*, v. 42, p. 561–574, 1999.
- HAEFNER, P. A. Natural Diet of *Callinectes ornatus* (Brachyura: Portunidae) in Bermuda. *Journal of Crustacean Biology*, v. 10, n. 2, p. 236, 1990.
- HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. 1999, London: Information Retrieval Ltd., c1979-c2000, 1999. p. 95–98.
- HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*, v. 4, n. 1, p. 1–9, 2001.
- HANDLEY, L. J. et al. Ecological genetics of invasive alien species. *BioControl*, v. 56, n. 4, p. 409–428, 2011.
- HÄNFLING, B.; EDWARDS, F.; GHERARDI, F. Invasive alien Crustacea: dispersal, establishment, impact and control. *BioControl*, v. 56, n. 4, p. 573–595, 2011.

- HANSEN, G. J. *et al.* Commonly rare and rarely common: comparing population abundance of invasive and native aquatic species. *PLoS One*, v. 8, n. 10, p. e77415, 2013.
- HANSKI, I. Dynamics of regional distribution: The core and satellite species hypothesis. *Oikos*, v. 38, p. 210–221, 1982.
- HARPER, D. M. *et al.* Distribution and abundance of the Louisiana red swamp crayfish *Procambarus clarkii* Girard at Lake Naivasha, Kenya between 1987 and 1999. *Hydrobiologia*, v. 488, n. 1, p. 143–151, 2002.
- HAYES, K. R.; SLIWA, C. Identifying potential marine pests—a deductive approach applied to Australia. *Marine Pollution Bulletin*, v. 46, n. 1, p. 91–98, 2003.
- HENTTONEN, P.; HUNER, J. V. The introduction of alien species in Europe: a historical introduction. In: GHERARDI, F.; HOLDICH, D. M. (Org.). *Crayfish in Europe as alien species: how to make the best of a bad situation?* Crustacean issues. Rotterdam: Balkema, 1999. p. 13–22.
- HOBBS, H. H. I. Trophic Relationships of North American Freshwater Crayfishes and Shrimps. H. H. Hobbs III. *Journal of the North American Benthological Society*, v. 13, n. 2, p. 330–330, 1993.
- HOBBS, H. H.; JASS, J. P.; HUNER, J. V. A Review of Global Crayfish Introductions with Particular Emphasis on Two North American Species (Decapoda, Cambaridae). *Crustaceana*, v. 56, n. 3, p. 299–316, 1989.
- HOBBS, H. H.; LODGE, D. M. Chapter 22 - Decapoda. In: THORP, J. H.; COVICH, A. P. (Org.). *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates*. Third Edition ed. San Diego: Academic Press, 2010. p. 901–967.
- HOLDICH, D. M.; GYDEMO, R.; ROGERS, W. D. A review of possible methods for controlling alien crayfish populations. In: GHERARDI, F.; HOLDICH, D. M. (Org.). *Crayfish in Europe as alien species: how to make the best of a bad situation?* Crustacean issues. Rotterdam: Balkema, 1999. p. 245–270.
- HOLDICH, D. M.; LOWERY, R. S. *Freshwater Crayfish: Biology, Management, and Exploitation*. London: Croom Helm, 1988.
- HUNER, J. V. Comparison of the morphology and meat yields of red swamp crawfish and white river crawfish. *Crawfish Tales*, v. 7, n. 2, p. 29–30, 1988.
- HUNER, J. V. Information about the biology and culture of the red swamp crawfish, *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) (Decapoda, Cambaridae) for fisheries managers in Latin America. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología*, v. 8, p. 43–50, 1981.
- HUNER, J. V.; BARR, J. E. *Red swamp crayfish: biology and exploitation*. The Louisiana Sea Grant College Program, Center for Wetland Resources. Baton Rouge, LA: Louisiana State University, 1991.
- HUNER, J. V.; ROMAIRE, R. P. Size at maturity as means of comparing populations of *Procambarus clarkii* (Girard) (Crustacea, Decapoda) from different habitats. *Freshwater Crayfish*, p. 453–64, 1978.

- HURYN, A. D.; WALLACE, J. B. Production and litter processing by crayfish in an Appalachian mountain stream. *Freshwater Biology*, v. 18, n. 2, p. 277–286, 1987.
- HUXEL, G. R. Rapid displacement of native species by invasive species: effects of hybridization. *Biological Conservation*, v. 89, n. 2, p. 143–152, 1999.
- ILHÉU, M. *et al.* Shelter use of the Red-Swamp Crayfish (*Procambarus clarkii*) in dry-season stream pools. *Archiv für Hydrobiologie*, v. 157, n. 4, p. 535–546, 2003.
- ILHÉU, M.; BERNARDO, J. M. Trophic ecology of red swamp crayfish *Procambarus clarkii* (Girard) - preferences and digestibility of plantfoods. *Freshwater Crayfish*, v. 10, p. 132–139, 1995.
- ILHÉU, M.; GUILHERME, P.; BERNARDO, J. M. Impact of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) on aquatic invertebrate and macrophyte assemblages: a case study in the south of Portugal. *SIL Proceedings, 1922-2010*, v. 28, n. 1, p. 144–147, 2002.
- IUCN. *IUCN guidelines for the placement of confiscated animals*. Gland: IUCN/SSC Re-introduction specialist group, & Environmental research & wildlife development agency (Emirats arabes unis), 2000.
- KAWAI, T.; KOBAYASHI, Y. Origin and current distribution of the alien crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) in Japan. *Crustaceana*, v. 78, p. 1143–1149, 2005.
- KETTUNEN, M. *et al.* *Technical support to EU strategy on invasive alien species (IAS)*. Bruxelas: Institute for European Environmental Policy (IEEP), 2009.
- KÖPPEN, W. *Climatología: con un estudio de los climas de la tierra*. [S.l.]: Fondo de Cultura Económica, 1948.
- KREBS, C. J. *Ecological methodology*. 2nd ed. Menlo Park, Calif: Benjamin/Cummings, 1999.
- SWOFFORD, D. L. *PAUP**. *Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods)*. Version 4.0b10. [S.l: s.n.], 2002. (version 4.0b10 edn).
- LI, Y. *et al.* Inferring Invasion History of Red Swamp Crayfish (*Procambarus clarkii*) in China from Mitochondrial Control Region and Nuclear Intron Sequences. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 16, n. 7, p. 14623–14639, 2015.
- LI, Y. *et al.* Population Genetic Structure and Post-Establishment Dispersal Patterns of the Red Swamp Crayfish *Procambarus clarkii* in China. *PLoS ONE*, v. 7, n. 7, p. e40652, 2012.
- LIBRADO, P.; ROZAS, J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, v. 25, n. 11, p. 1451–1452, 2009.
- LIGHT, T. Behavioral effects of invaders: alien crayfish and native sculpin in a California stream. *Biological Invasions*, v. 7, n. 3, p. 353–367, 2005.
- LIMA, J. DE F.; GARCIA, J. DA S.; TAVARES, M. Foregut morphology of *Macrobrachium carcinus* (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). *Acta Amazonica*, v. 46, n. 2, p. 209–218, 2016.

LINDQVIST, O. V.; HUNER, J. V. Life history characteristics of crayfish: what makes some of them good colonizers? In: GHERARDI, F.; HOLDICH, D. M. (Org.). *Crayfish in Europe as alien species: how to make the best of a bad situation?* Crustacean issues. Rotterdam: Balkema, 1999. p. 23–30.

LINDQVIST, O. V.; LAHTI, E. On the sexual dimorphism and condition index in the crayfish *Astacus astacus* L. *Freshwater Crayfish*, v. 5, p. 3–11, 1983.

LIU, G.; ZHOU, L. Population genetic structure and molecular diversity of the red swamp crayfish in China based on mtDNA COI gene sequences. *Mitochondrial DNA Part A*, v. 28, n. 6, p. 860–866, 2017.

LOCKWOOD, J. L.; HOOPES, M. F.; MARCHETTI, M. P. *Invasion ecology*. 2nd ed. Chichester: Wiley-Blackwell, 2013.

LODGE, D. M. et al. Predicting impact of freshwater exotic species on native biodiversity: Challenges in spatial scaling. *Australian Journal of Ecology*, v. 23, n. 1, p. 53–67, 2006.

LODGE, D. M. Biological invasions: lessons for ecology. *Trends in ecology & evolution*, v. 8, n. 4, p. 133–137, 1993.

LODGE, D. M. et al. Effects of an Omnivorous Crayfish (*Orconectes Rusticus*) on a Freshwater Littoral Food Web. *Ecology*, v. 75, n. 5, p. 1265–1281, 1994.

LODGE, D. M. et al. Nonindigenous Crayfishes Threaten North American Freshwater Biodiversity: Lessons from Europe. *Fisheries*, v. 25, n. 8, p. 7–20, 2000.

LOMOLINO, M.; RIDDLE, B.; WHITTAKER, R. J. *Biogeography*. Sunderland: Sinauer, 2017.

LONGSHAW, M. Diseases of crayfish: A review. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 106, n. 1, p. 54–70, 2011.

LOUREIRO, T. G. et al. Distribution, introduction pathway, and invasion risk analysis of the North American crayfish *Procambarus clarkii* (Decapoda: Cambaridae) in Southeast Brazil. *Journal of Crustacean Biology*, v. 35, n. 1, p. 88–96, 2015a.

LOUREIRO, T. G. et al. Red swamp crayfish: biology, ecology and invasion - an overview. *Nauplius*, v. 23, n. 1, p. 1–19, 2015b.

LOUREIRO, T. G. et al. Management of invasive populations of the freshwater crayfish *Procambarus clarkii* (Decapoda, Cambaridae): test of a population-control method and proposal of a standard monitoring approach. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 190, n. 9, p. 559, 2018.

LOUREIRO, T. G. et al. Food matters: Trophodynamics and the role of Diet in *Procambarus clarkii* invasion success in an Atlantic Forest conservation area. *Limnologica - Ecology and Management of Inland Waters*, Forthcoming.

LOWERY, R. S.; MENDES, A. J. *Procambarus clarkii* in Lake Naivasha, Kenya, and its effects on established and potential fisheries. *Aquaculture*, v. 11, n. 2, p. 111–121, 1977.

- LUDSIN, S. A.; WOLFE, A. D. Biological Invasion Theory: Darwin's Contributions from The Origin of Species. *BioScience*, v. 51, n. 9, p. 780, 2001.
- MACARTHUR, R. H. Patterns of species diversity. *Biological Reviews*, v. 40, n. 4, p. 510–533, 1965.
- MACEDA-VEIGA, A.; DE SOSTOA, A.; SÁNCHEZ-ESPADA, S. Factors affecting the establishment of the invasive crayfish *Procambarus clarkii* (Crustacea, Decapoda) in the Mediterranean rivers of the northeastern Iberian Peninsula. *Hydrobiologia*, v. 703, n. 1, p. 33–45, 2013.
- MAEZONO, Y.; MIYASHITA, T. Impact of exotic fish removal on native communities in farm ponds. *Ecological Research*, v. 19, n. 3, p. 263–267, 2004.
- MAGALHÃES, C. *et al.* Exotic species of freshwater decapod crustaceans in the state of São Paulo, Brazil: Records and possible causes of their introduction. *Biodiversity and Conservation*, v. 14, n. 8, p. 1929–1945, 2005.
- MAGURRAN, A. E. Diversity Indices and Species Abundance Models. *Ecological Diversity & its measurement*, p. 7–32, 1988.
- MARCHETTI, M. P.; MOYLE, P. B.; LEVINE, R. Invasive species profiling? Exploring the characteristics of non-native fishes across invasion stages in California. *Freshwater Biology*, v. 49, n. 5, p. 646–661, 2004.
- MARINI, M. Â.; GARCIA, F. I. Bird Conservation in Brazil. *Conservation Biology*, v. 19, n. 3, p. 665–671, 2005.
- MARR, S. *et al.* *Evaluating invasion risk for freshwater fishes in South Africa*. [S.l: s.n.], 2017. v. 42. (Bothalia - African Biodiversity and Conservation).
- MAZLUM, Y.; FATIH CAN, M.; EVERSOLE, A. G. Morphometric relationship of length-weight and chelae length-width of eastern white river crayfish (*Procambarus acutus acutus*, Girard, 1852), under culture conditions. *Journal of Applied Ichthyology*, v. 23, n. 5, p. 616–620, 2007.
- MEYERSON, L. A.; MOONEY, H. A. Invasive alien species in an era of globalization. *Invasive species*, v. 5, n. 4, p. 199–208, 2007.
- IMITSCH, W. J.; GOSSELINK, J. G. The value of wetlands: importance of scale and landscape setting. *Ecological Economics*, v. 35, n. 1, p. 25–33, 2000.
- MMA. *Espécies exóticas invasoras situação brasileira*. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, 2006.
- MMA. *Quarto Relatório para a conveção sobre diversidade biológica*. [S.l: s.n.], 2011. v. 38. (Biodiversidade).
- MMA; PNUMA; ANA. *GEO Brasil–Recursos Hídricos: Componente da série de relatórios sobre o estado ea perspectiva do meio ambiente no Brasil (GEO Brazil–Water Resources)*. Brasília: Ministério do Meio Ambiente; Agência Nacional de Águas; Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente, 2007.

- MOMOT, W. T. Redefining the role of crayfish in aquatic ecosystems. *Reviews in Fisheries Science*, v. 3, n. 1, p. 33–63, 1995.
- MOONEY, H. A. *et al.* *Invasive Alien Species: A New Synthesis*. Washington, D.C.: Island Press, 2005.
- MORAES, J. C. B. *et al.* Morphological and molecular data reveal the cryptic diversity among populations of *Aegla paulensis* (Decapoda, Anomura, Aeglidae), with descriptions of four new species and comments on dispersal routes and conservation status. *Zootaxa*, v. 4193, n. 1, p. zootaxa.4193.1.1, 2016.
- MOYLE, P. B.; LIGHT, T. Biological invasions of fresh water: Empirical rules and assembly theory. *Biological Conservation*, v. 78, n. 1–2, p. 149–161, 1996.
- MUELLER, G. A.; CARPENTER, J.; THORNBURGH, D. Bullfrog tadpole (*Rana catesbeiana*) and red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) predation on early life stages of endangered razorback sucker (*Xyrauchen texanus*). *Southwestern Naturalist*, v. 51, n. 2, p. 258–261, 2006.
- MÜLLER-NAVARRA, D. C. *et al.* A highly unsaturated fatty acid predicts carbon transfer between primary producers and consumers. *Nature*, v. 403, n. 6765, p. 74–77, 2000.
- MUSGROVE, R. J. Digestive ability of the freshwater crayfish *Paranephrops zealandicus* (White) (Parastacidae) and the role of microbial enzymes. *Freshwater Biology*, v. 20, n. 3, p. 305–314, 1988.
- MYERS, N. *et al.* Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, v. 403, p. 853, 2000.
- NENTWIG, W. *Biological Invasions*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007.
- NENTWIG, W.; KÜHNEL, E.; BACHER, S. A Generic Impact-Scoring System Applied to Alien Mammals in Europe. *Conservation Biology*, v. 24, n. 1, p. 302–311, 2010.
- NILSEN, J. P. Tropical lakes - functional ecology and future development: The need for a process-orientated approach. *Hydrobiologia*, v. 113, n. 1, p. 231–242, 1984.
- NIQUETTE, D. J.; D'ABRAMO, L. R. Population dynamics of red swamp crawfish, *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) and white river crawfish, *P. acutus acutus* (Girard, 1852), cultured in earthen ponds. *Journal of Shellfish Research, Maine*, v. 10, n. 1, p. 179–186, 1991.
- NISHIJIMA, S.; NISHIKAWA, C.; MIYASHITA, T. Habitat modification by invasive crayfish can facilitate its growth through enhanced food accessibility. *BMC Ecology*, v. 17, n. 1, p. 37, 2017.
- NUNES, A. L. *et al.* Morphological and life-history responses of anurans to predation by an invasive crayfish: an integrative approach. *Ecology and Evolution*, v. 4, n. 8, p. 1491–1503, 2014.
- NUNES, A. L. *et al.* Nonlethal injury caused by an invasive alien predator and its consequences for an anuran tadpole. *Basic and Applied Ecology*, v. 11, n. 7, p. 645–654, 2010.

- NYSTRÖM, P. Ecological impact of introduced and native crayfish on freshwater communities. In: GHERARDI, F.; HOLDICH, D. M. (Org.). *Crayfish in Europe as alien species: how to make the best of a bad situation? Crustacean issues*. Rotterdam: Balkema, 1999. p. 63–85.
- NYSTRÖM, P. Ecology. In: HOLDICH, D. M. (Org.). *Biology of freshwater crayfish*. Oxford: Blackwell Science, 2002. p. 192–235.
- NYSTRÖM, P.; BRONMARK, C.; GRANELI, W. Patterns in benthic food webs: a role for omnivorous crayfish? *Freshwater Biology*, v. 36, n. 3, p. 631–646, 1996.
- OIE. Chapter 2.2.1 Crayfish Plague (*Aphanomyces astaci*). *Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals*, p. 63–77, 2009.
- OLSEN, T. M. et al. Mechanisms of impact of an introduced crayfish (*Orconectes rusticus*) on littoral congeners, snails, and macrophytes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 48, n. 10, p. 1853–1861, 1991.
- OLSSON, K. et al. Invasions and niche width: does niche width of an introduced crayfish differ from a native crayfish? *Freshwater Biology*, v. 54, n. 8, p. 1731–1740, 2009.
- O'NEILL, D. J.; HANDWERKER, T.; REBACH, S. Location of molting and distribution of postmolt crayfish (*Procambarus clarkii*) in high-density culture. *Freshwater Crayfish*, v. 8, p. 635–647, 1995.
- PACE et al. Trophic cascades revealed in diverse ecosystems. *Trends in ecology & evolution*, v. 14, n. 12, p. 483–488, 1999.
- PAGLIA, A. P. et al. Lista Anotada dos Mamíferos do Brasil/Annotated Checklist of Brazilian Mammals. *Occasional papers in conservation biology*, v. 6, p. 76, 2012.
- PAGLIANTI, A.; GHERARDI, F. Combined Effects of Temperature and Diet on Growth and Survival of Young-of-Year Crayfish: A Comparison between Indigenous and Invasive Species. *Journal of Crustacean Biology*, v. 24, n. 1, p. 140–148, 2004.
- PALAORO, A. V. et al. Niche conservatism and the potential for the crayfish *Procambarus clarkii* to invade South America. *Freshwater Biology*, v. 58, n. 7, p. 1379–1391, 2013.
- PARK, K. Assessment and management of invasive alien predators. *Ecology and Society*, v. 9, n. 2, 2004.
- PARKER, I. M. et al. Impact: Toward a Framework for Understanding the Ecological Effects of Invaders. *Biological Invasions*, v. 1, n. 1, p. 3–19, 1999.
- PARKER, J. D. et al. Do invasive species perform better in their new range. *Ecology*, v. 94, n. 5, p. 1–8, 2013.
- PARKYN, S. M.; COLLIER, K. J.; HICKS, B. J. New Zealand stream crayfish: functional omnivores but trophic predators? *Freshwater Biology*, v. 46, n. 5, p. 641–652, 2001.
- PENN, G. H. A Study of the Life History of the Louisiana Red-Crawfish, *Cambarus clarkii* Girard. *Ecology*, v. 24, n. 1, p. 1–18, 1943.

- PIMENTEL, D. *et al.* Economic and environmental threats of alien plant, animal, and microbe invasions. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v. 84, n. 1, p. 1–20, 2001.
- PIMENTEL, D.; ZUNIGA, R.; MORRISON, D. Update on the environmental and economic costs associated with alien-invasive species in the United States. *Ecological Economics*, v. 52, n. 3, p. 273–288, 2005.
- PINTO-COELHO, R. M. Effects of eutrophication on seasonal patterns of mesozooplankton in a tropical reservoir: a 4-year study in Pampulha Lake, Brazil. *Freshwater Biology*, v. 40, n. 1, p. 159–173, 1998.
- PÍNTOR, L. M.; SIH, A.; BAUER, M. L. Differences in aggression, activity and boldness between native and introduced populations of an invasive crayfish. *Oikos*, v. 117, n. 11, p. 1629–1636, 2008.
- PÍNTOR, L. M.; SIH, A.; KERBY, J. L. Behavioral correlations provide a mechanism for explaining high invader densities and increased impacts on native prey. *Ecology*, v. 90, n. 3, p. 581–587, 2009.
- PYKE, G. H. Optimal Foraging Theory: A Critical Review. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 15, n. 1, p. 523–575, 1984.
- PYŠEK, P. *et al.* A global assessment of invasive plant impacts on resident species, communities and ecosystems: the interaction of impact measures, invading species' traits and environment. *Global Change Biology*, v. 18, n. 5, p. 1725–1737, 2012.
- RAMALHO, R. O.; ANASTÁCIO, P. M. Crayfish learning abilities: how does familiarization period affect the capture rate of a new prey item? *Ecological Research*, v. 26, n. 1, p. 53–58, 2011.
- RICCIARDI, A. Are Modern Biological Invasions an Unprecedented Form of Global Change? *Conservation Biology*, v. 21, n. 2, p. 329–336, 2007.
- RICCIARDI, A. *et al.* Invasion Science: A Horizon Scan of Emerging Challenges and Opportunities. *Trends in Ecology & Evolution*, v. 32, n. 6, p. 464–474, 2017.
- RICCIARDI, A. Predicting the impacts of an introduced species from its invasion history: An empirical approach applied to zebra mussel invasions. *Freshwater Biology*, v. 48, n. 6, p. 972–981, 2003.
- RICCIARDI, A.; MACISAAC, H. J. Impacts of biological invasions on freshwater ecosystems. *Fifty years of invasion ecology: the legacy of Charles Elton*, v. 1, p. 211–224, 2011.
- RICCIARDI, A.; RASMUSSEN, J. B. Predicting the identity and impact of future biological invaders: a priority for aquatic resource management. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 55, n. 7, p. 1759–1765, 1998.
- RICHARDSON, D. M. *et al.* Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Diversity and Distributions*, v. 6, n. 2, p. 93–107, 2000.

- RICKLEFS, R. E. Disintegration of the Ecological Community. *The American Naturalist*, v. 172, n. 6, p. 741–750, 2008.
- RODRÍGUEZ, C. F. *et al.* Loss of diversity and degradation of wetlands as a result of introducing exotic crayfish. *Biological Invasions*, v. 7, n. 1, p. 75–85, 2005.
- RODRÍGUEZ, C. F.; BÉCARES, E.; FERNÁNDEZ-ALÁEZ, M. Shift from clear to turbid phase in Lake Chozas (NW Spain) due to the introduction of American red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*). *Hydrobiologia*, v. 506–509, n. 1–3, p. 421–426, 2003.
- ROQUE, F. O. *et al.* Benthic macroinvertebrates in streams of the Jaragua State Park (Southeast of Brazil) considering multiple spatial scales. *Journal of Insect Conservation*, v. 7, n. 2, p. 63–72, 2003.
- RUBIN, J. F.; SVENSSON, M. Predation by the noble crayfish, *Astacus astacus* (L.), on emerging fry of sea trout, *Salmo trutta* (L.). *Nordic Journal of Freshwater Research (Sweden)*, 1993.
- SAKAI, A. K. *et al.* The Population Biology of Invasive Species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 32, n. 1, p. 305–332, 2001.
- SANGUANRUANG, M. Bioenergetics of red swamp crawfish (*Procambarus clarkii*) in cultivated, noncultivated and wooded ponds in south Louisiana. *LSU Historical Dissertations and Theses*, 1988.
- SANTOS, S. *et al.* Natural diet of the freshwater anomuran *Aegla longirostri* (Crustacea, Anomura, Aeglidae). *Journal of Natural History*, v. 42, n. 13–14, p. 1027–1037, 2008.
- SCBD. *Alien species that threaten ecosystems, habitats or species (CBD/COP/Decision VI/23)*. Conference of the Parties no. 6 (COP 6) of Convention on Biological Diversity (CBD): The Hagen: Secretariat of the Convention on Biological Diversity (SCBD)/ United Nations Environmental Program (UNEP), 2002.
- SCHINDLER, D. E.; KNAPP, R. A.; LEAVITT, P. R. Alteration of Nutrient Cycles and Algal Production Resulting from Fish Introductions into Mountain Lakes. *Ecosystems*, v. 4, n. 4, p. 308–321, 2001.
- SCHLEIFSTEIN, M.; FEDELI, D. Louisiana crawfish invade ponds across the globe. *Tulane Studies in Zoology*, v. 12, n. 3, p. 79–85, 2003.
- SEALS, C. *et al.* Effects of temperature on feeding activity of the white river crayfish *Procambarus acutus acutus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, v. 28, n. 2, p. 133–141, 1997.
- SEBER, G. A. F. A Review of Estimating Animal Abundance. *Biometrics*, v. 42, n. 2, p. 267–292, 1986.
- SEBER, G. A. F. *Estimation of animal abundance and related parameters*. London: Edward Arnold, 1982.
- SHEA, K.; CHESSON, P. Community ecology theory as a framework for biological invasions. *Trends in Ecology and Evolution*, v. 17, n. 4, p. 170–176, 2002.

- SIBLY, R. M.; HONE, J. Population growth rate and its determinants: an overview. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 357, n. 1425, p. 1153–1170, 2002.
- SIESA, M. E. *et al.* Spatial autocorrelation and the analysis of invasion processes from distribution data: a study with the crayfish *Procambarus clarkii*. *Biological Invasions*, v. 13, n. 9, p. 2147–2160, 2011.
- SILVA, H. L. M. D.; BUENO, S. L. D. S. Population size estimation of the exotic crayfish *Procambarus clarkii* (Girard) (Crustacea, Decapoda, Cambaridae) in the Alfredo Volpi City Park, São Paulo, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 22, n. 1, p. 93–98, 2005.
- SIMBERLOFF, D. Eradication—preventing invasions at the outset. *Weed Science*, v. 51, n. 2, p. 247–253, 2003.
- SIMBERLOFF, D. *et al.* Impacts of biological invasions: what's what and the way forward. *Trends in Ecology & Evolution*, v. 28, n. 1, p. 58–66, 2013.
- SIMBERLOFF, D.; PARKER, I. M.; WINDLE, P. N. Introduced species policy, management, and future research needs. *Frontiers in Ecology and the Environment*, v. 3, n. 1, p. 12–20, 2005.
- SKURDAL, J.; QVENILD, T. Growth, maturity and fecundity of *Astacus astacus* in Lake Steinsfjorden, S. E. Norway. *Freshwater Crayfish*, v. 6, p. 182–186, 1986.
- SOMMER, T. R. The biological response of the crayfish *Procambarus clarkii* to transplantation into California ricefields. *Aquaculture*, v. 41, n. 4, p. 373–384, 1984.
- SOUTY-GROSSET, C. *et al.* *Atlas of crayfish in Europe*. Paris: Publ. Scientifiques du Muséum National d'Histoire Naturelle, 2006. (Collection patrimoines naturels, 64).
- SOUTY-GROSSET, C. *et al.* The red swamp crayfish *Procambarus clarkii* in Europe: Impacts on aquatic ecosystems and human well-being. *Limnologica - Ecology and Management of Inland Waters*, v. 58, p. 78–93, 2016.
- SOUZA, F. M. DE *et al.* Flora arbustivo-arbórea do Parque Estadual do Jaraguá, São Paulo - SP. *Biota Neotropica*, v. 9, p. 187–200, 2009.
- STENROTH, P.; NYSTRÖM, P. Exotic crayfish in a brown water stream: effects on juvenile trout, invertebrates and algae. *Freshwater Biology*, v. 48, n. 3, p. 466–475, 2003.
- STOHLGREN, T. J.; SCHNASE, J. L. Risk analysis for biological hazards: What we need to know about invasive species. *Risk Analysis*, v. 26, n. 1, p. 163–173, 2006.
- STRINGER, C. B.; ANDREWS, P. Genetic and fossil evidence for the origin of modern humans. *Science*, v. 239, n. 4845, p. 1263–8, 1988.
- STROBECK, C. Average Number of Nucleotide Differences in a Sample From a Single Subpopulation: A Test for Population Subdivision. *Genetics*, v. 117, n. 1, p. 149 LP – 153, 1987.

- SUKÔ, T. Studies on the development of the crayfish. I. The development of secondary sex characters in appendages. *Scientific Reports from Saitama University*, v. 1B, p. 77–96, 1953.
- SUSKI, C. D.; COOKE, S. J. Conservation of Aquatic Resources through the Use of Freshwater Protected Areas: Opportunities and Challenges. *Biodiversity and Conservation*, v. 16, n. 7, p. 2015–2029, 2007.
- SUTHERS, I. M. Functional morphology of the mouthparts and gastric mill in *Penaeus plebejus* Hess (Decapoda: Penaeidea). *Marine and Freshwater Research*, v. 35, n. 6, p. 785, 1984.
- TABARELLI, M. *et al.* Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira. *Megadiversidade*, v. 1, n. 1, p. 132–138, 2005.
- TAKETOMI, Y.; MURATA, M.; MIYAWAKI, M. Androgenic Gland and Secondary Sexual Characters in the Crayfish *Procambarus clarkii*. *Journal of Crustacean Biology*, v. 10, n. 3, p. 492–497, 1990.
- TAN, H. Y. *et al.* Full-length normalization subtractive hybridization analysis provides new insights into sexual precocity and ovarian development of red swamp crayfish *Procambarus clarkii*. *Aquaculture*, v. 468, p. 417–427, 2017.
- TORRES, E.; ÁLVAREZ, F. Genetic variation in native and introduced populations of the red swamp crayfish *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) (Crustacea, Decapoda, Cambaridae) in Mexico and Costa Rica. *Aquatic Invasions*, v. 7, n. 2, 2012.
- TSUTSUI, N. D. *et al.* Reduced genetic variation and the success of an invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 97, n. 11, p. 5948–5953, 2000.
- USIO, N.; TOWNSEND, C. R. Roles of crayfish: consequences of predation and bioturbation for stream invertebrates. *Ecology*, v. 85, n. 3, p. 807–822, 2004.
- VITOUSEK, P. M. Biological Invasions and Ecosystem Processes: Towards an Integration of Population Biology and Ecosystem Studies. *Oikos*, v. 57, n. 1, p. 7–13, 1990.
- WALKER, B.; STEFFEN, W. An overview of the implications of global change for natural and managed terrestrial ecosystems. *Conservation Ecology*, v. 1, n. 2, 1997.
- WALLACE, J. B. *et al.* The role of macroinvertebrates in stream ecosystem function. *Annual review of entomology*, v. 41, n. 5322, p. 115–39, 1996.
- WALTERS, C. J.; HOLLING, C. S. Large-Scale Management Experiments and Learning by Doing. *Ecology*, v. 71, n. 6, p. 2060–2068, 1990.
- WANG, Q. *et al.* Length-weight and chelae length-width relationships of the crayfish *Procambarus clarkii* under culture conditions. *Journal of Freshwater Ecology*, v. 26, n. 2, p. 287–294, 2011.
- WANG, Q. *et al.* A Comparison of Gender Growth Performance of *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) Under Aquaculture Conditions. *Journal of Crustacean Biology*, v. 34, n. 6, p. 717–721, 2014.

- WEAR, R. G.; HADDON, M. Natural diet of the crab *Ovalipes catharus* (Crustacea, Portunidae) around central and northern New Zealand. *Marine Ecology Progress Series*, v. 35, p. 39–49, 1987.
- WEBSTER, J. R.; PATTEN, B. C. Effects of Watershed Perturbation on Stream Potassium and Calcium Dynamics. *Ecological Monographs*, v. 49, n. 1, p. 51–72, 1979.
- WESTMAN, K.; PURSIAINEN, M.; VILKMAN, R. A new folding trap model which prevents crayfish from escaping. *Freshwater Crayfish*, v. 4, p. 235–242, 1979.
- WESTMAN, K.; SUMARI, O.; PURSIAINEN, M. Electric fishing in sampling crayfish. *Freshwater Crayfish*, v. 4, p. 251–255, 1978.
- WILCOVE, D. S. *et al.* Quantifying threats to imperiled species in the United States. *BioScience*, v. 48, n. 8, p. 607–615, 1998.
- WILLIAMS, M. J. Methods for analysis of natural diet in portunid crabs (Crustacea: Decapoda: Portunidae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 52, n. 1, p. 103–113, 1981.
- WILLIAMSON, M. H. *Biological invasions*. 1st ed. London; New York: Chapman & Hall, 1996. (Population and community biology series, 15).
- WITTENBERG, R.; COCK, M. J. *Invasive alien species: a toolkit of best prevention and management practices*. Wallingford: CABI, 2001.
- YANG, P. *et al.* Genetic Structure of the Oriental River Prawn (*Macrobrachium nipponense*) from the Yangtze and Lancang Rivers Inferred from COI Gene Sequence. *Zoological Research*, v. 28, n. 2, p. 113–118, 2007.
- YI, S. *et al.* Characterization of Population Genetic Structure of red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*, in China. *Scientific Reports*, v. 8, n. 1, p. 5586, 2018.
- YUE, G. H. *et al.* Genetic diversity and population structure of the invasive alien red swamp crayfish. *Biological Invasions*, v. 12, n. 8, p. 2697–2706, 2010.
- ZAGATTO, P. A.; ARAGAO, M. A.; CARVALHO, M. DO C. Manual de orientação em casos de florações de algas tóxicas: um problema ambiental e de saúde pública. *Série manuais*. São Paulo: Cetesb, 1994. v. 14.
- ZAR, J. H. *Biostatistical analysis*. New Jersey: Prentice Hall, 2010.
- ZENNI, R. D. *et al.* Invasion Science in the Developing World: A Response to Ricciardi et al. *Trends in Ecology & Evolution*, v. 32, n. 11, p. 807–808, 2017.
- ZENNI, R. D.; DECHOUM, M. D. S.; ZILLER, S. R. Dez anos do informe brasileiro sobre espécies exóticas invasoras: avanços, lacunas e direções futuras. *Biotemas*, v. 29, n. 1, p. 133, 2016.
- ZHAN, A. *et al.* Scale-dependent post-establishment spread and genetic diversity in an invading mollusc in South America. *Diversity and Distributions*, v. 18, n. 10, p. 1042–1055, 2012.

ZHANG, W. *et al.* Dietary flexibility aids Asian earthworm invasion in North American forests. *Ecology*, v. 91, n. 7, p. 2070–2079, 2010.

Anexo I**PORTRARIA IBAMA Nº 05, DE 28 DE JANEIRO DE 2008.**

O PRESIDENTE DO INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS - IBAMA, no uso das atribuições que lhes confere o item V do art. 22, do anexo I ao Decreto nº 6.099, de 26 de abril de 2007, que aprova a Estrutura Regimental do IBAMA, publicada no Diário Oficial da União de 27 de abril de 2007;

CONSIDERANDO que o *Procambarus clarkii* (Lagostim-Vermelho) é uma espécie exótica, capaz de colonizar ambientes diversos, com grande habilidade para dispersão e tolerante às mais adversas condições ambientais;

CONSIDERANDO, ainda, que essa espécie é oficialmente reconhecida como "invasora", em mais de 30 países, e que vem sendo responsável por causar prejuízos econômicos, sociais e ambientais nos países onde se estabeleceu; e,

CONSIDERANDO que a produção de *P. clarkii* no país é relativamente pequena, envolve poucos produtores e se destina, exclusivamente, ao abastecimento do mercado de Aquariofilia, Resolve:

Art. 1º Não autorizar, em todo território nacional, a introdução, reintrodução, importação, comercialização, cultivo e transporte de indivíduos vivos da espécie *Procambarus clarkii*.

Art. 2º A manutenção de exemplares vivos de *Procambarus clarkii* será permitida somente em domicílios residenciais, como animal de estimação, e em locais isolados da natureza, pelo prazo máximo de dois (2) anos, a partir a data de publicação desta Portaria.

Art. 3º Fica estabelecido o prazo de sessenta (60) dias, a partir da data de publicação desta Portaria, para que criadores, empresas que comercializam animais aquáticos vivos, zoológicos e aquários públicos e particulares se adequem à presente norma.

Art. 4º Os animais não podem ser colocados em ambientes naturais, nem em águas naturais.

Parágrafo único. Os animais descartados podem ser entregues às unidades descentralizadas do IBAMA.

Art. 5º Esta Portaria entra em vigor na data de sua publicação.

BAZILEU ALVES MARGARIDO NETO

DOU

29/01/2008

Anexo II

**MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
SECRETARIA DE BIODIVERSIDADE
COMISSÃO NACIONAL DE BIODIVERSIDADE
RESOLUÇÃO Nº 7, DE 29 DE MAIO DE 2018
DOU de 13/06/2018 (nº 112, Seção 1, pág. 69)**

Dispõe sobre a Estratégia Nacional para Espécies Exóticas Invasoras

A Comissão Nacional de Biodiversidade - CONABIO, no uso de suas atribuições legais conferidas pelo Decreto nº 4.703, de 21 de maio de 2003, e tendo em vista o disposto no Art. 10 do Anexo da Portaria nº 153, de 23 de junho de 2004, do Ministério do Meio Ambiente;

Considerando que espécies exóticas invasoras estão entre as principais causas diretas de perda de biodiversidade e extinção de espécies, juntamente com mudanças climáticas e perda de habitat, sobreexploração e poluição, fatores com os quais podem ter efeitos negativos sinérgicos;

Considerando que a Convenção sobre Diversidade Biológica, promulgada pelo Decreto nº 2.519, de 16 de março de 1998, estabelece em seu artigo 8(h) que cada Parte da Convenção deve, na medida do possível e conforme o caso impedir que se introduzam, controlar ou erradicar espécies exóticas que ameacem os ecossistemas, habitats ou espécies; e

Considerando a Resolução CONABIO nº 06, de 3 de setembro de 2013, que dispõe sobre as Metas Nacionais de Biodiversidade 2011- 2020, resolve:

Art. 1º - Aprovar a Estratégia Nacional para Espécies Exóticas Invasoras, conforme documento disponível no link: <http://www.mma.gov.br/biodiversidade/comissao-nacional-de-biodiversidade/resolucoes>.

Art. 2º - Fica revogada a Resolução CONABIO nº 05, de 21 de outubro de 2009.

Art. 3º - Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação.

JOSÉ PEDRO DE OLIVEIRA COSTA Presidente da Comissão